

# Фундаментальные основы иммунодиагностики в клинической практике

**Иванов Андрей Михайлович**

*Военно-медицинская академия  
им. С.М. Кирова*



# Лабораторная диагностика





Г.П.Сомов  
В.И.Покровский, Н.Н.Беседнова

---

# ПСЕВДО- ТУБЕРКУЛЕЗ

---

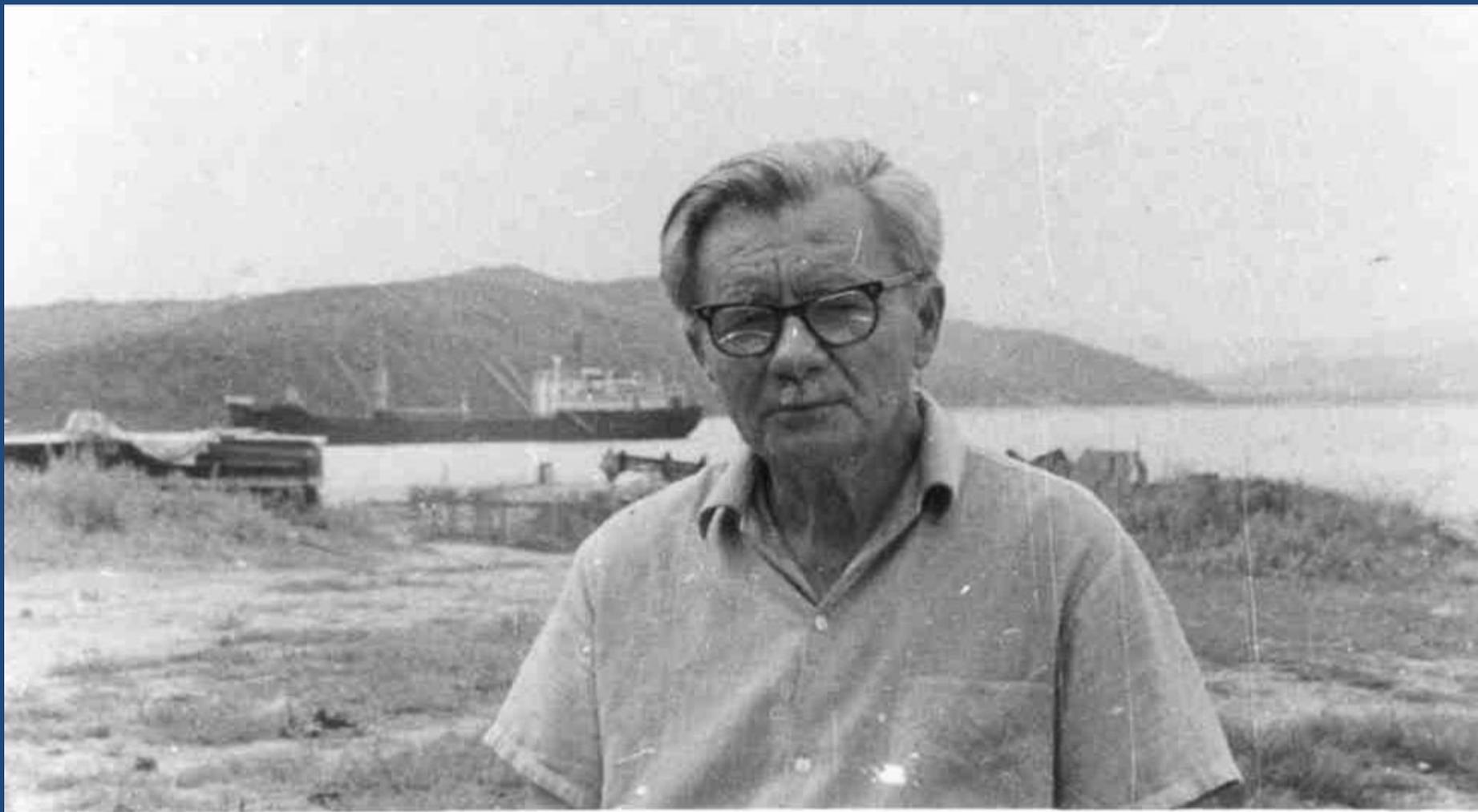


Академик АМН СССР  
Илья Ильич Иванов (1904-1977)

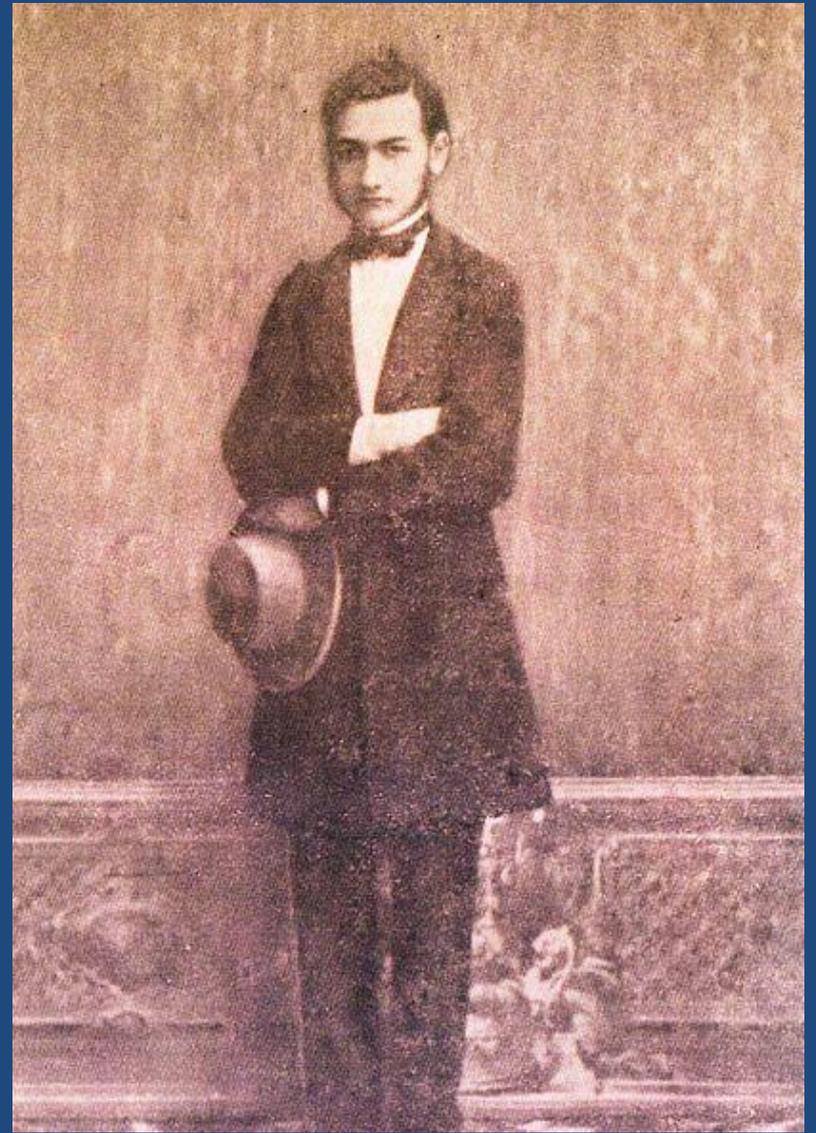


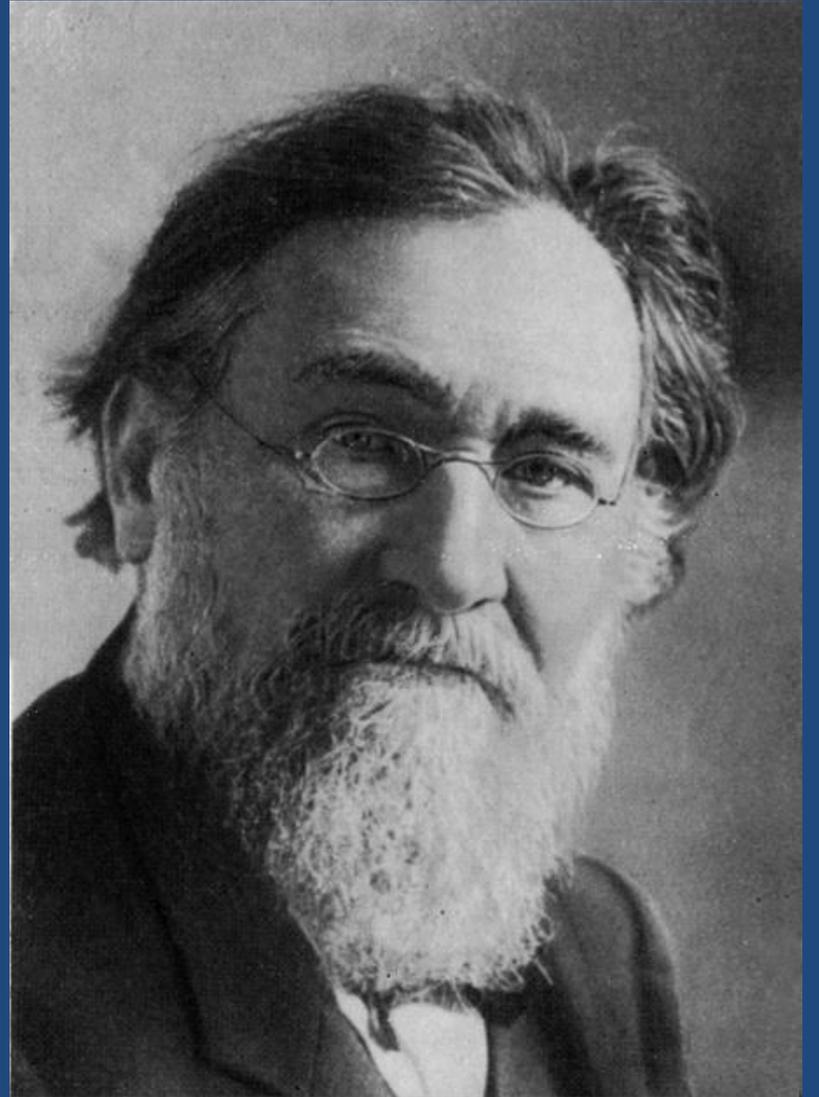


**И.И. Иванов – участник установки первой лаборатории экспериментальной станции «Восток» ВНИИ биологии обитателей моря Дальневосточного отделения АН СССР (поселок Авангард, бухта Прибойная под Владивостоком, 1970 г.)**



**И.И. Иванов на экспериментальной станции  
«Восток» под Владивостоком (1972 г.)**





# Термин «иммунитет»



- 1880 г. Л.Пастер сформулировал принципы иммунопрофилактики инфекций на основе экспериментов с ослаблением (аттенуацией) возбудителя холеры кур.
- **Ввел термин «иммунитет»** (lat. *Immunis* –освобождающий) для обозначения снижения вероятности развития инфекционного заболевания при повторном заражении (после ранее перенесенной инфекции)

**Максимов Александр Александрович [4.2.1874 - 4.12.1928] - выдающийся российский учёный, гистолог и эмбриолог.**

- А.А.Максимов родился в Санкт-Петербурге, где в 1896 году с отличием окончил Военно-медицинскую академию. С 1903 по 1922 гг. А.А.Максимов занимал пост профессора кафедры гистологии Военно-медицинской академии.
- В 1922 г. эмигрировал в США, где с 1922 по 1928 годы являлся профессором кафедры анатомии медицинского факультета Чикагского университета.





# Фундаментальные аспекты иммунодиагностики

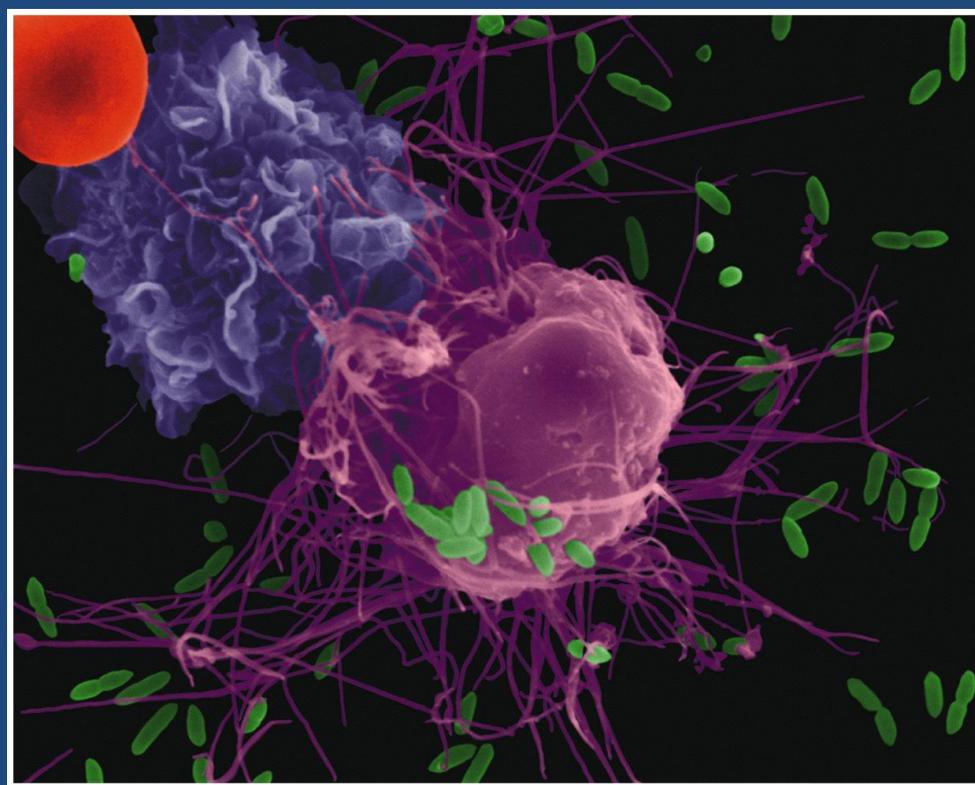
- Методические (методологические)
- Технологические

# Классификация факторов врожденного иммунитета

- Физические
- Физиологические
- Клеточные
- Медиаторы воспаления

# Врожденный иммунитет

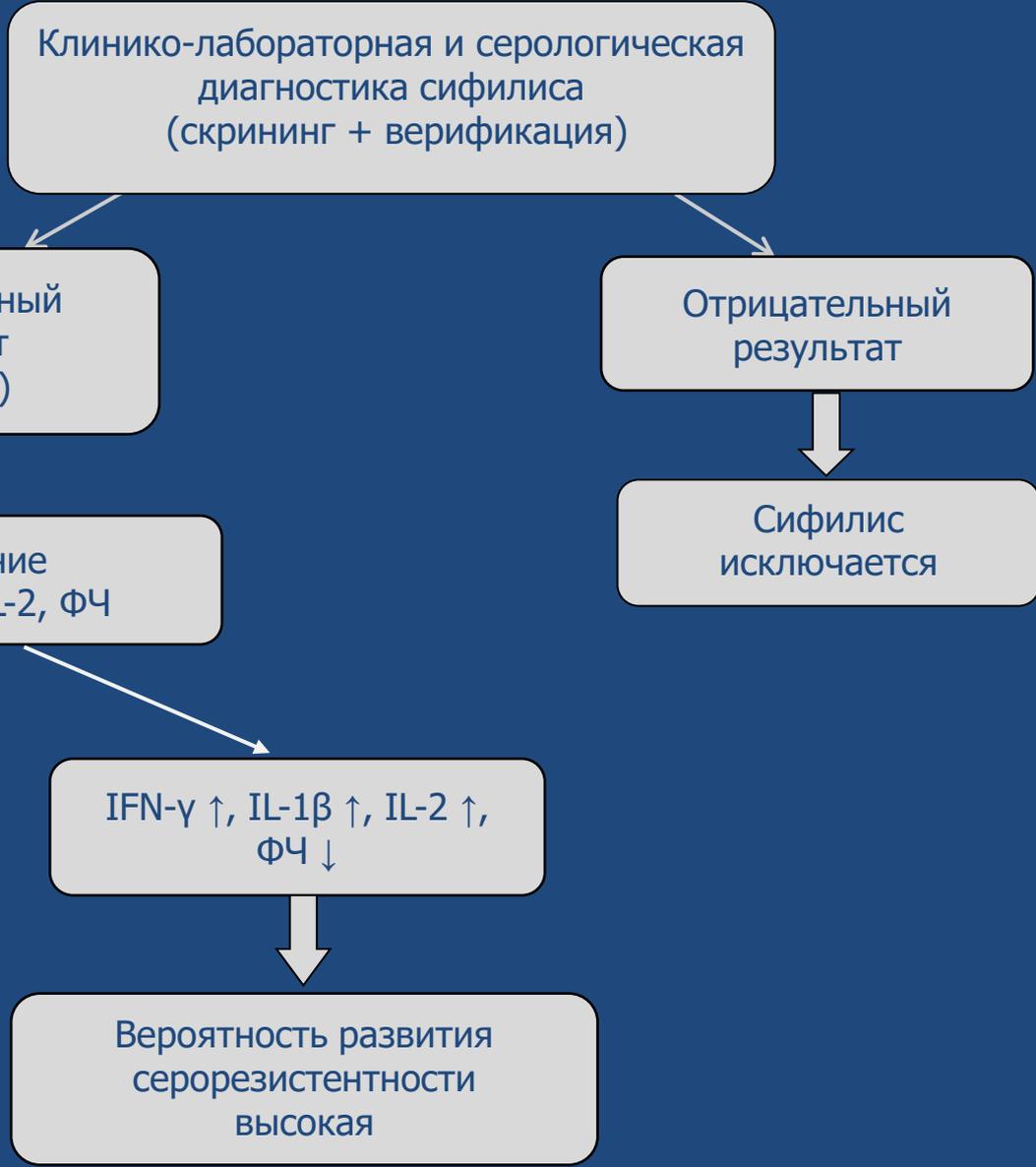
- Растворимые факторы (система комплемента, лизоцим, интерфероны, острофазовые белки, цитокины, антимикробные пептиды)
- Клеточные факторы (моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, НК-клетки)



# Критерии прогноза течения хронического гепатита С



# Алгоритм иммунологического обследования при сифилисе



Клинико-лабораторная и серологическая диагностика сифилиса (скрининг + верификация)

Положительный результат (сифилис)

Отрицательный результат

Сифилис исключается

Определение IFN-γ, IL-1β, IL-2, ФЧ

Выраженных изменений иммунологических показателей не выявлено

IFN-γ ↑, IL-1β ↑, IL-2 ↑, ФЧ ↓

Вероятность развития серорезистентности низкая

Вероятность развития серорезистентности высокая

# Влияние факторов иммунитета на эффективность лечения хронического трихомониаза

Хронический трихомониаз

Определение  
IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-8,  
CD19+

IFN- $\gamma$   $\uparrow$ , IL-1 $\beta$   $\uparrow$   
CD19+ $\downarrow$ , IL-8(N)

**Th1**

Неблагоприятный прогноз  
эффективности терапии

CD19+ $\uparrow$ , IL-8 $\uparrow$   
IFN- $\gamma$ (N), IL-1 $\beta$ (N)

**Th2**

Благоприятный прогноз  
эффективности терапии

Прогноз при инфекционных заболеваниях определяется активацией иммунной системы в направлении наиболее эффективного пути (Th1/Th2) элиминации этиологического агента

# Nobel Prize 2011 and Shaw Prize 2011 (medicine)



**Charles Janeway** – идея о существовании PRR

**Bruce A. Beutler** – экспериментальное подтверждение PRR\* мыши

**Jules A. Hoffmann** – экспериментальное подтверждение PRR дрозофил

**Ruslan Medzhitov** – экспериментальное подтверждение PRR человека





 **ESCMID**  
EUROPEAN SOCIETY  
OF CLINICAL MICROBIOLOGY  
AND INFECTIOUS DISEASES

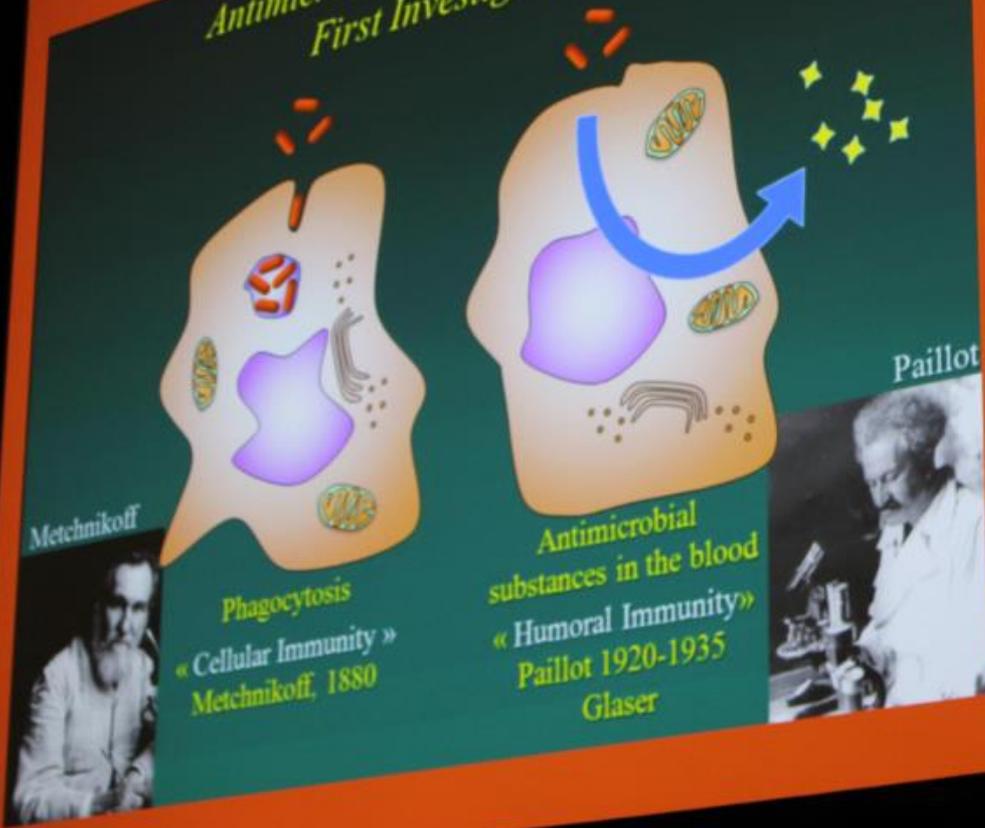
*J.A. Hoffmann*



**CMID**

European Congress of  
Clinical Microbiology  
and Infectious Diseases

# Antimicrobial Defenses in Insects : First Investigations



Metchnikoff

Phagocytosis  
« Cellular Immunity »  
Metchnikoff, 1880

Antimicrobial  
substances in the blood  
« Humoral Immunity »  
Paillot 1920-1935  
Glaser

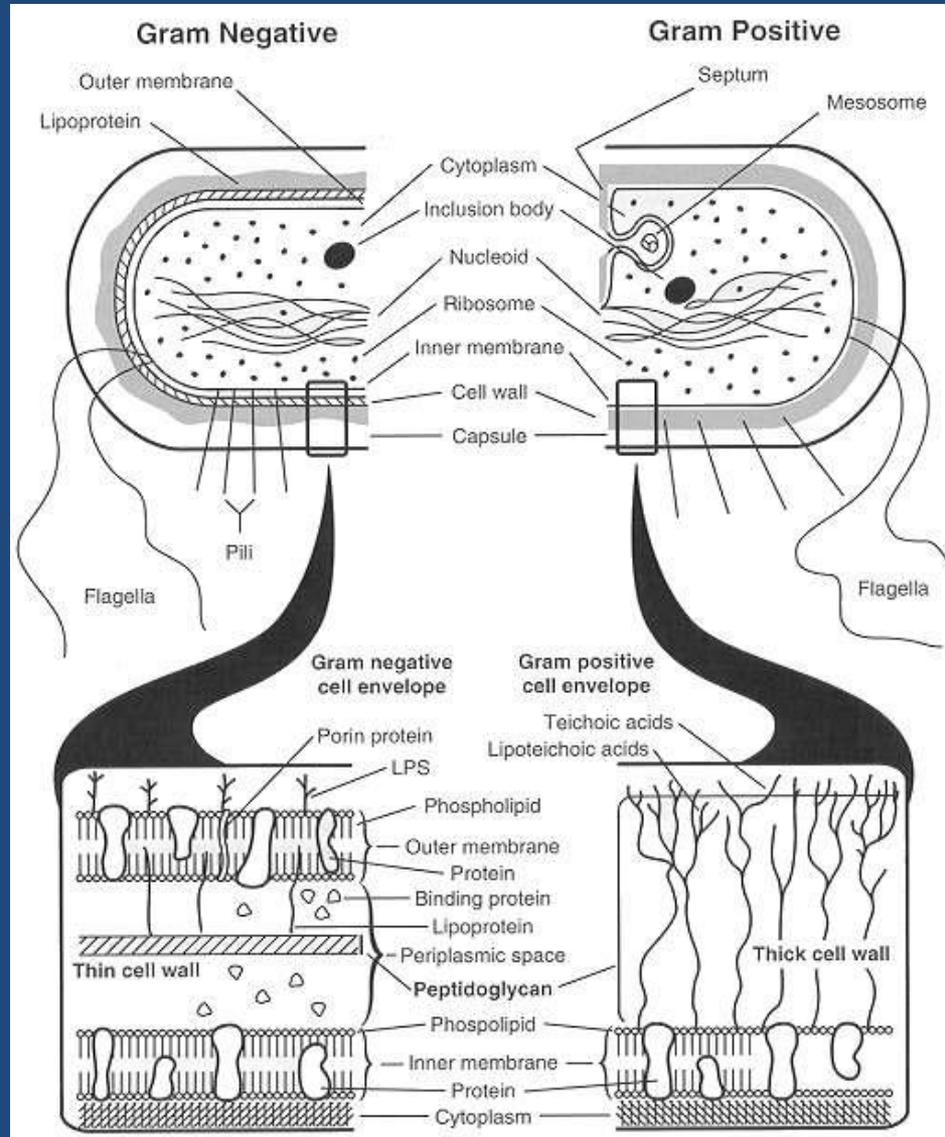
Paillot



ESCMID

EUROPEAN SOCIETY  
OF CLINICAL  
MICROBIOLOGY  
AND INFECTIOUS DISEASES

# Строение бактериальной клеточной стенки



# Свойства патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (ПАМП)

- Синтезируются только микроорганизмами, их синтез отсутствует в клетках макроорганизма.
- Являются наиболее общими для микроорганизмов структурами.
- Структуры в составе ПАМП, распознаваемые ПРР (а значит и врожденной иммунной системой), являются важными для выживания и патогенности микроорганизмов – отличаются консервативностью и неподверженностью мутациям.

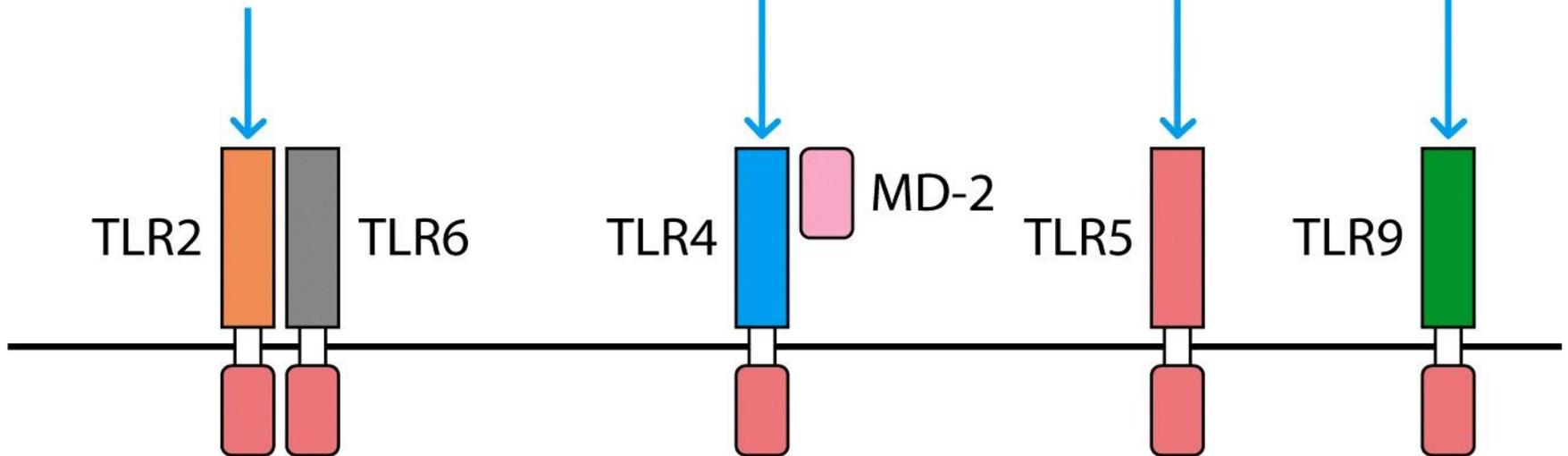
Lipoproteins  
Lipoarabinomannan  
LPS (*Leptospira*)  
LPS (*P. gingivalis*)  
PGN (Gram-positive)  
Zymosan (Yeast)  
GPI anchor (*T. cruzi*)

LPS (Gram-negative)  
Taxol (Plant)  
F protein (RS virus)  
hsp60 (Host)  
Fibronectin (Host)

Flagellin



CpG DNA

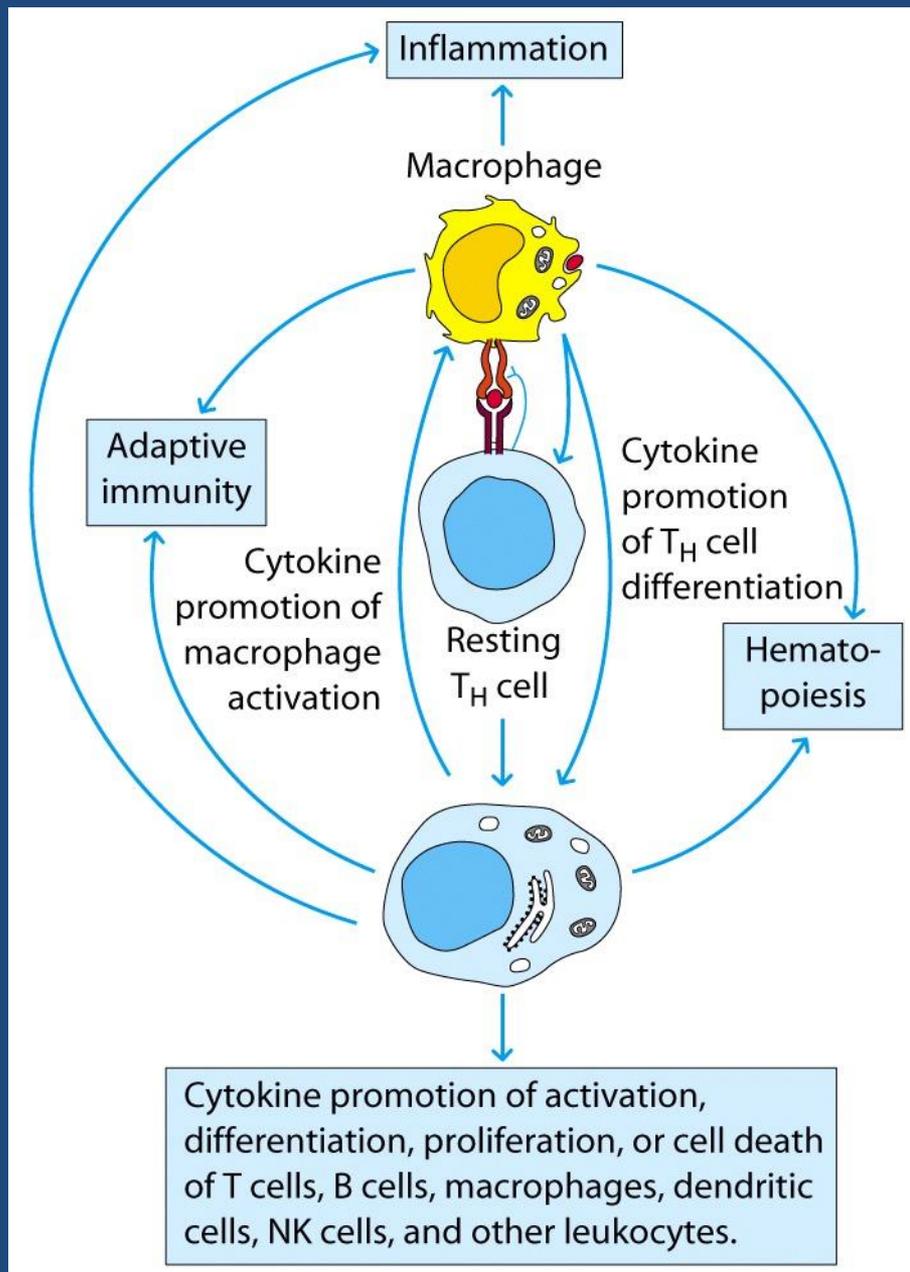


# Специфичность сигнальных рецепторов врожденного иммунитета

PRR	Лиганды	Тип патогена
TLR-1	Триациллипептиды, модулин <i>M. tuberculosis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+],</li> <li>грам-[-]</li> </ul>
TLR-2	Липопротеиды большинства патогенов, пептидогликаны, липотейхоевые и маннуроновые кислоты, порины <i>Neisseria</i> , атипичные ЛПС, факторы вирулентности <i>Yersinia</i> , вирионы CMV, зимозан	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+],</li> <li>грам-[-],</li> <li>грибы,</li> <li>вирусы</li> </ul>
TLR-3	Двунитчатая РНК	<ul style="list-style-type: none"> <li>вирусы</li> </ul>
TLR-4	ЛПС грам-отрицательных бактерий, HSP60, полимерные маннуроновые кислоты, флаволипиды, теихуроновые кислоты, пневмолизин, оболочечный белок RSV	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+],</li> <li>грам-[-],</li> <li>вирусы</li> </ul>
TLR-5	Флагеллин	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+]</li> </ul>
TLR-6	Диациллипептиды, модулин, липотейхоевая кислота, зимозан	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+],</li> <li>грибы</li> </ul>
TLR-7	Однонитчатая РНК, синтетические вещества	<ul style="list-style-type: none"> <li>вирусы</li> </ul>
TLR-8	Однонитчатая РНК, синтетические вещества	<ul style="list-style-type: none"> <li>вирусы</li> </ul>
TLR-9	Неметилированная CpG ДНК	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+],</li> <li>грам-[-]</li> </ul>
TLR-10	Неизвестны	
TLR-11	Уропатогенные бактерии	
NOD1	Пептидогликаны (GM-Tri <sub>dap</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[+]</li> </ul>
NOD2	Пептидогликаны (ГМДП)	<ul style="list-style-type: none"> <li>грам-[-]</li> </ul>

# Специфичность распознавания ПАМП различными TLR

ПАМП	Патоген	Рецептор
Триацетилированные липопептиды (липогликаны липоманнан и липоарабиноманнан), фосфатидилинозитолдиманнозид и липопротеин 19 кД)	Mycobacterium tuberculosis Mycobacterium leprae	TLR1/TLR2
Диацетилированные липопептиды		TLR2/TLR6
Липополисахарид	Leptospira interrogans, Porphyromonas gingivalis, Helicobacter pylori	TLR2
Белки вирусной оболочки	цитомегаловирус, вирус кори, вирус герпеса HSV-1	
Гликозилфосфатидилинозитол	простейшие (Trypanosoma cruzi, Trypanosoma brucei, Toxoplasma gondii, Leishmania major, Plasmodium falciparum)	TLR1/TLR2, TLR2/TLR6
Липопротеины, пептидогликаны, липотейхоевые кислоты	Грам-положительные бактерии (Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae)	
Зимозан	грибы (дрожжи)	
Гликолипиды	Treponema pallidum	
Модулин	Staphylococcus epidermis	TLR3
Двухцепочечная РНК	вирусы и бактерии	
Липополисахарид	Грам-отрицательные бактерии	TLR4
F(fusion)-протеин вирусной оболочки	RSV	
Гликозилфосфатидилинозитол	простейшие (Trypanosoma cruzi, Trypanosoma brucei, Toxoplasma gondii, Leishmania major и Plasmodium falciparum)	TLR5
Бактериальный флагеллин	Legionella pneumophila, Salmonella typhimurium	
Одноцепочечная РНК	вирус HCV	
	Mycobacterium tuberculosis, вирусы HCV, HIV-1, RSV	TLR8
CpG ДНК	вирусы герпеса HSV-1 и HSV-2, HIV, простейшие (Trypanosoma cruzi, Trypanosoma brucei, Toxoplasma gondii, Leishmania major и Plasmodium falciparum)	TLR9
	REP-последовательности ДНК	



→ **PRR** { pattern-recognition receptor

• **Эндоцитозные**

# Скавенджеры

# Маннозные

# Глюкановые

• **Сигнальные**

# TLR 1-14

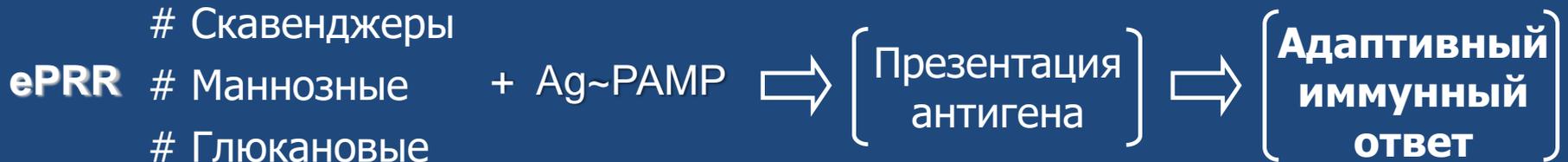
# NOD 1-2

# NALP

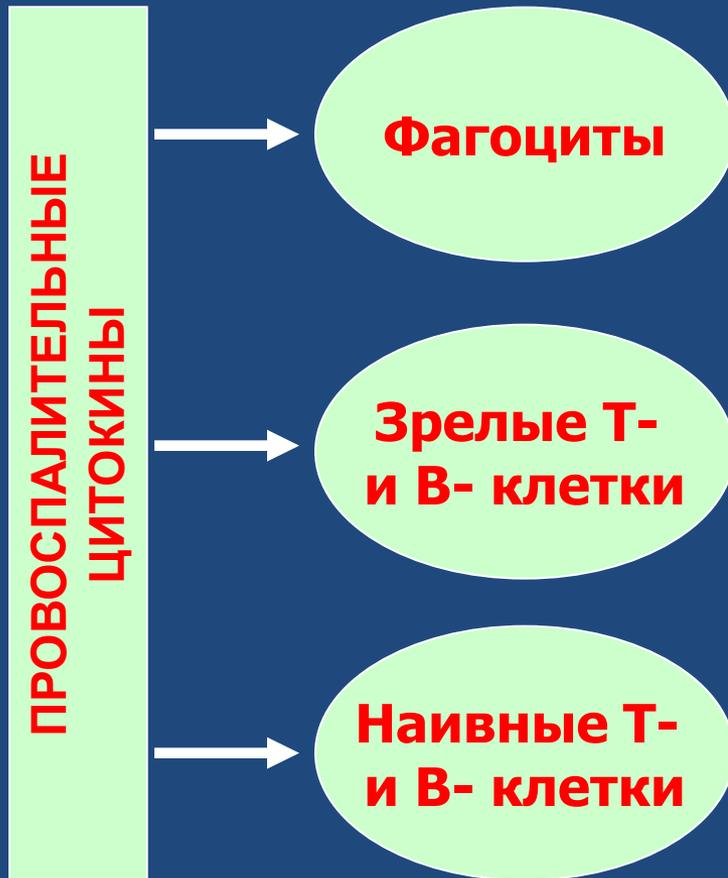
**PAMP** { pathogen-associated molecular pattern

- Липополисахарид – грам[-]
- Липотейхоевые кислоты – грам[+]
- Пептидогликан – грам[-] и грам[+]
- Бактериальная ДНК
- Двуспиральная РНК (вирусы)
- Глюканы (грибы)
- Маннаны

# Рецепторы врожденного иммунитета:

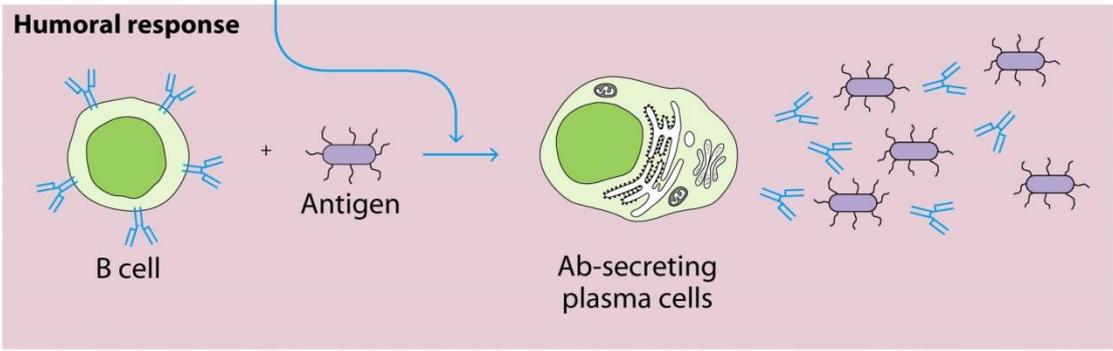
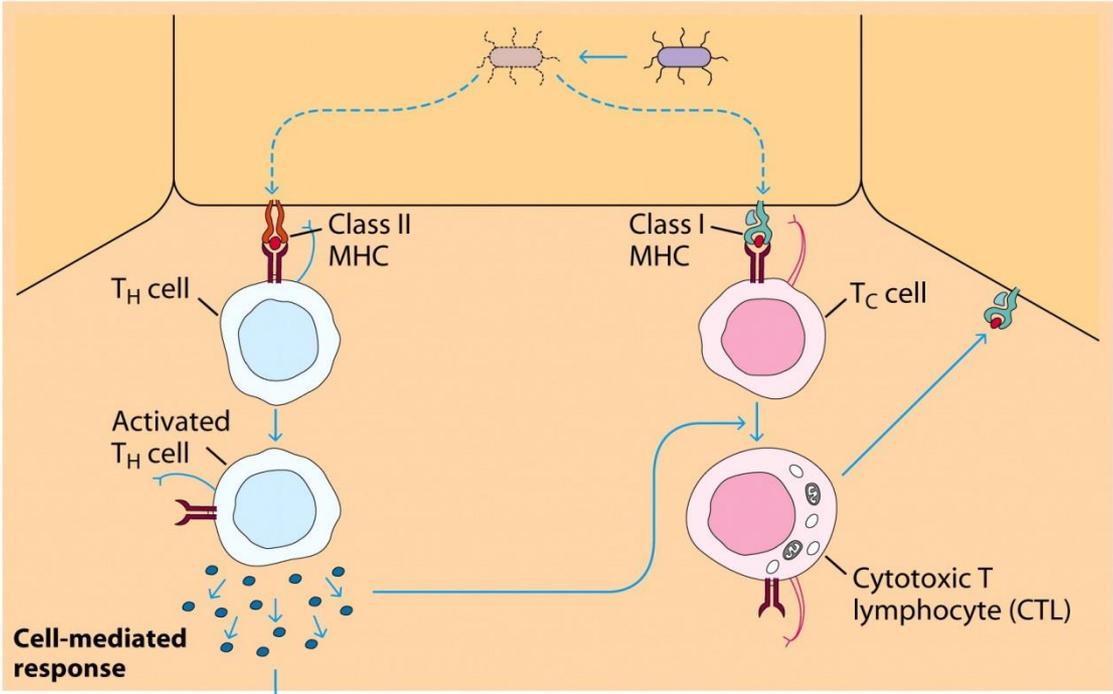
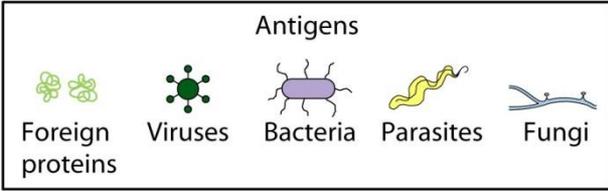


# Биологические эффекты цитокинов



Эффект цитокинов реализуется в трех направлениях:

- **Фагоциты** – активация фагоцитоза, презентация антигена, продукция свободных радикалов
- **Зрелые Т- и В-клетки** – усиление функций (увеличение продукции Ig, активация киллеров)
- **Наивные Т- и В-клетки** – активация и подготовка к иммунному ответу



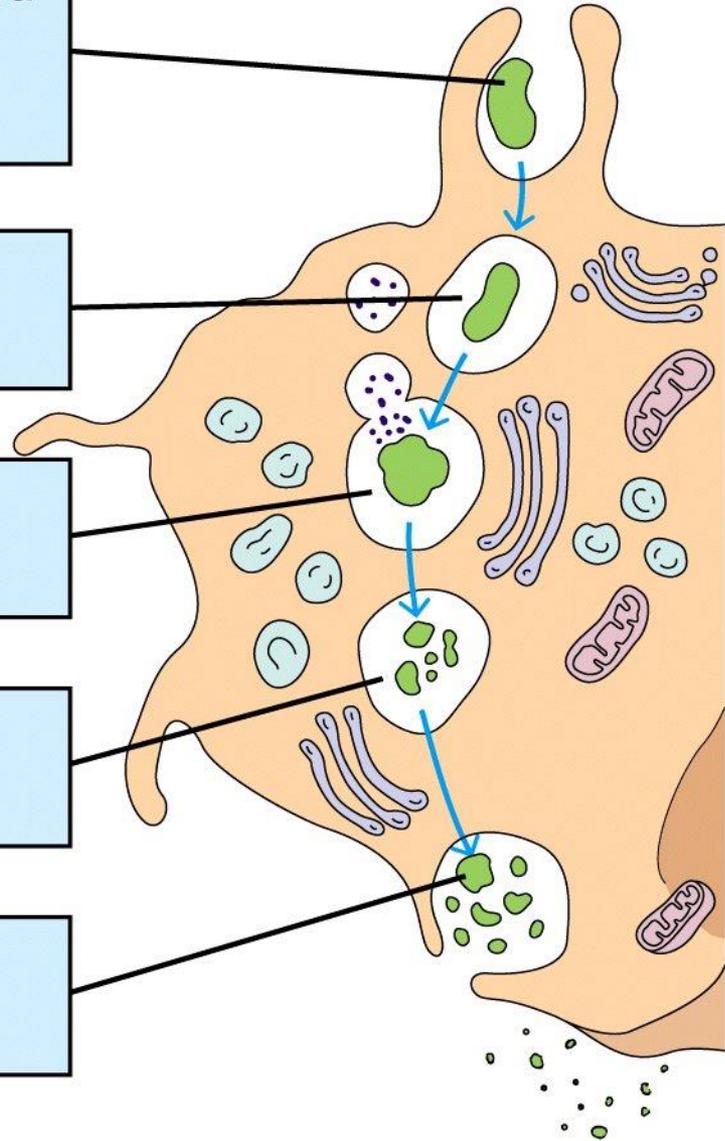
1 Bacterium becomes attached to membrane evaginations called pseudopodia

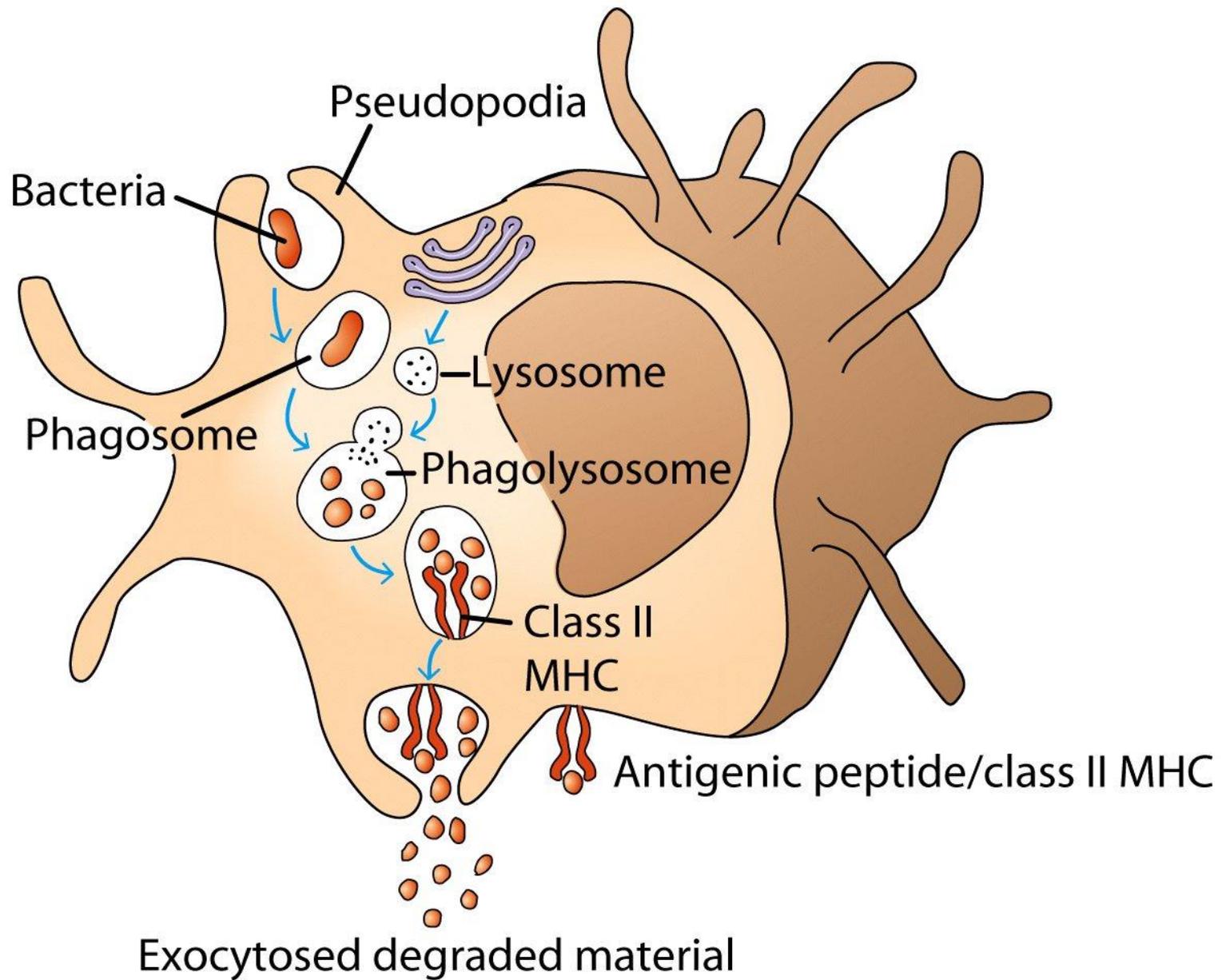
2 Bacterium is ingested, forming phagosome

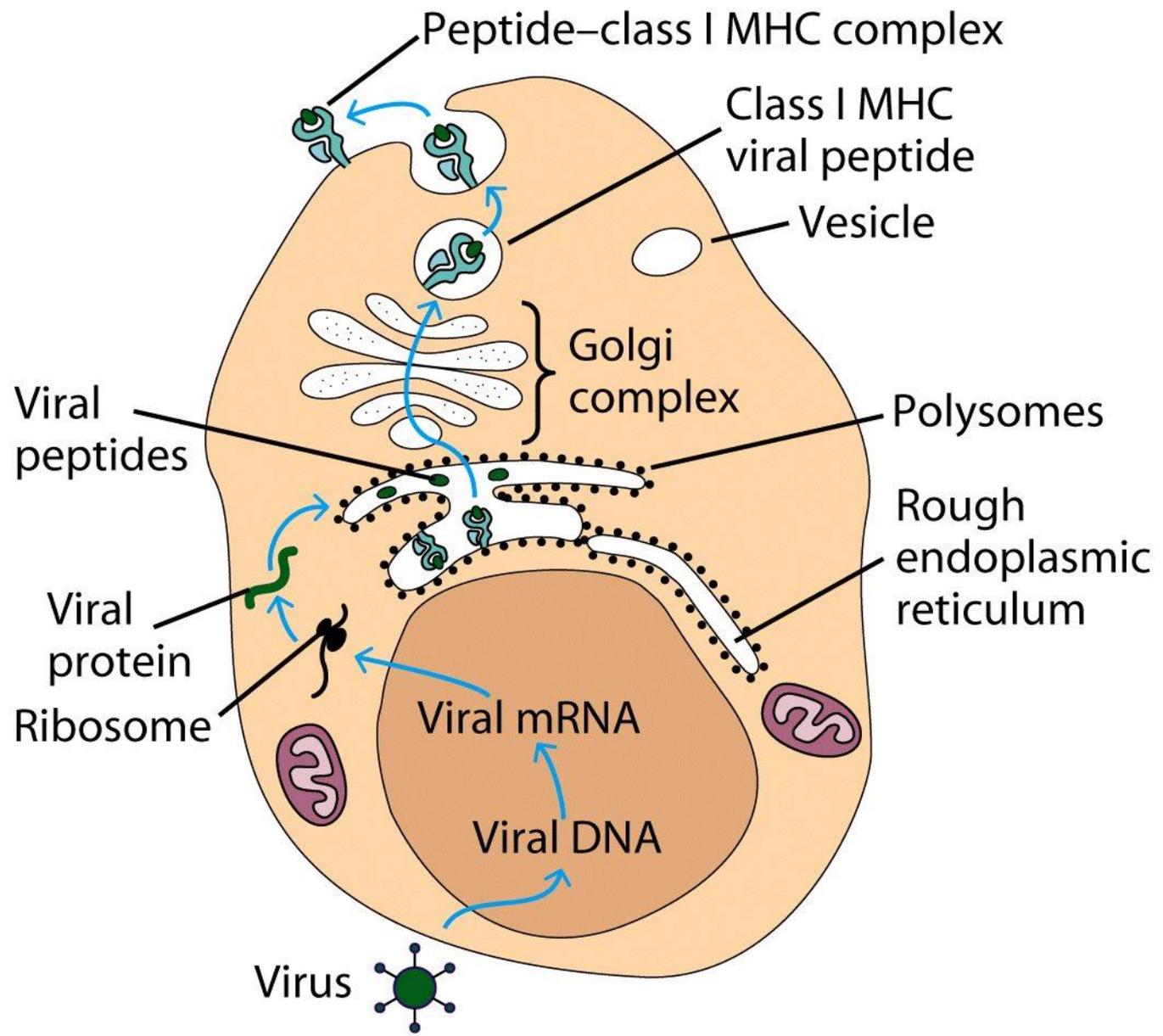
3 Phagosome fuses with lysosome

4 Lysosomal enzymes digest captured material

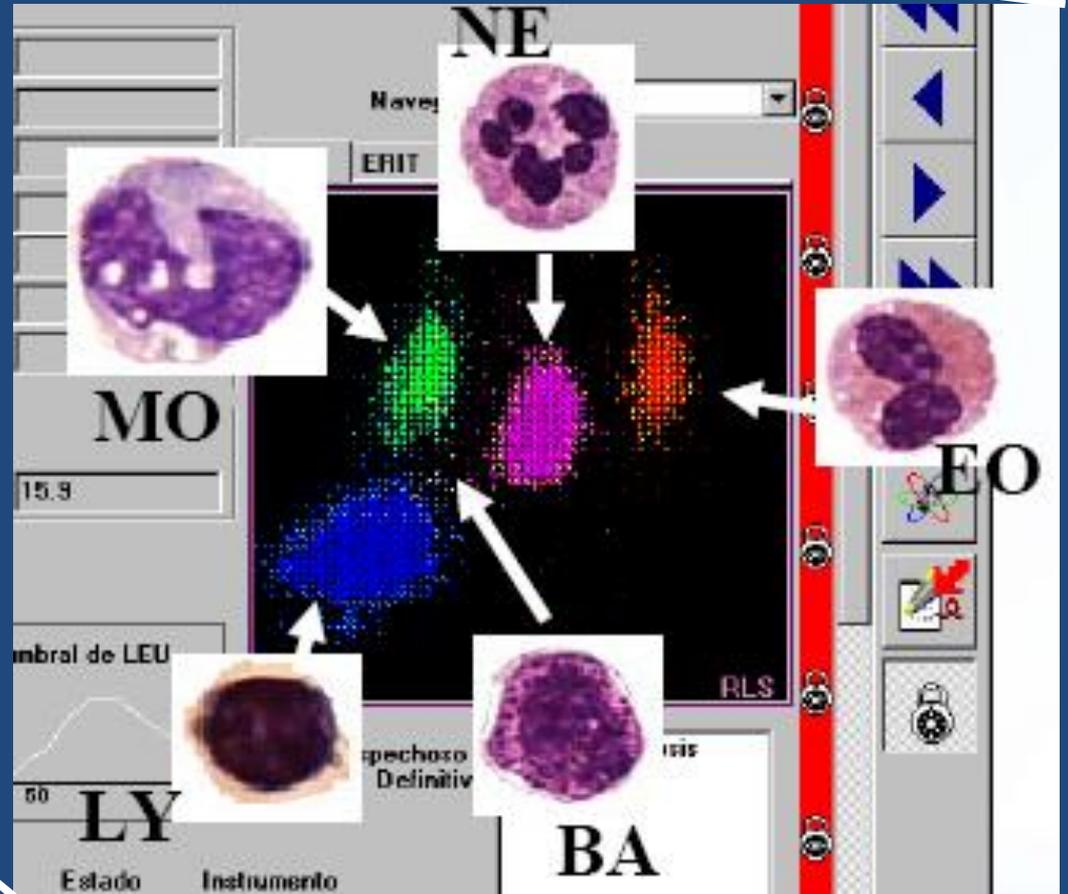
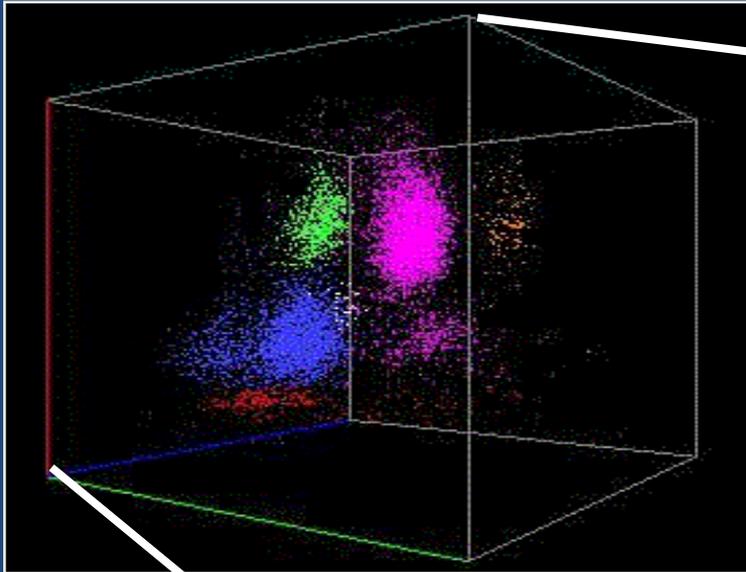
5 Digestion products are released from cell







# Проточная цитометрия





# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ

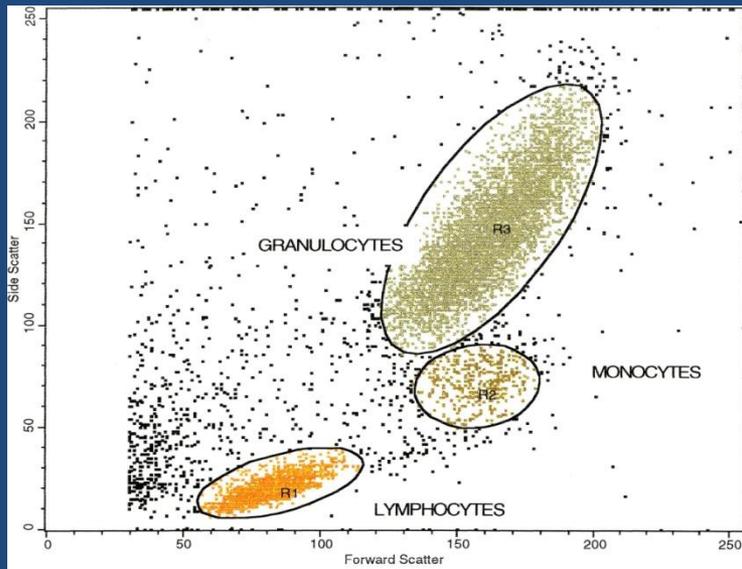
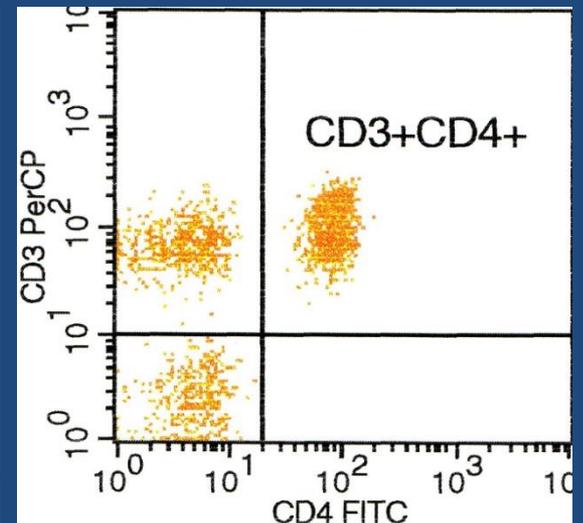
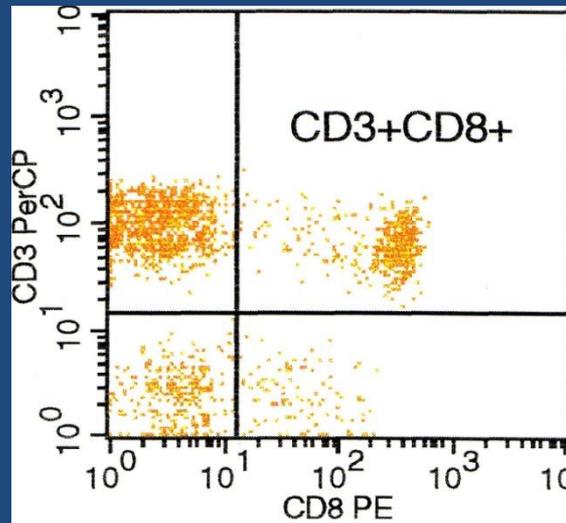
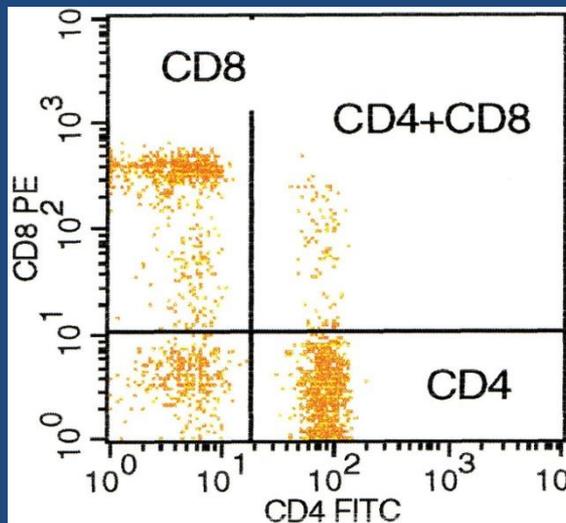


График нормального распределения клеток периферической крови

## Основные субпопуляции Т-лимфоцитов



**ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РАЗРАБОТАНА 4-ЦВЕТНАЯ ПАНЕЛЬ МКА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ**

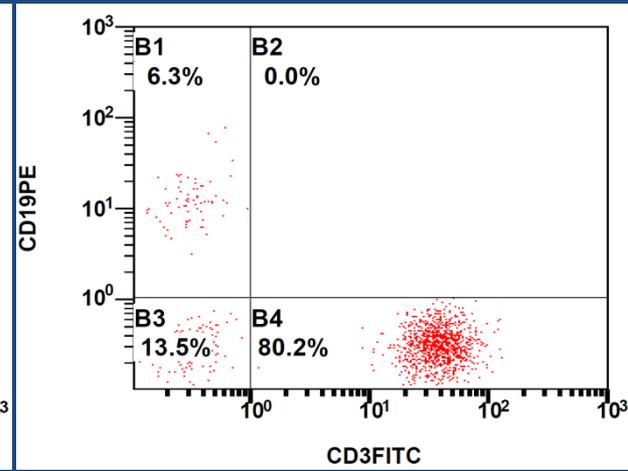
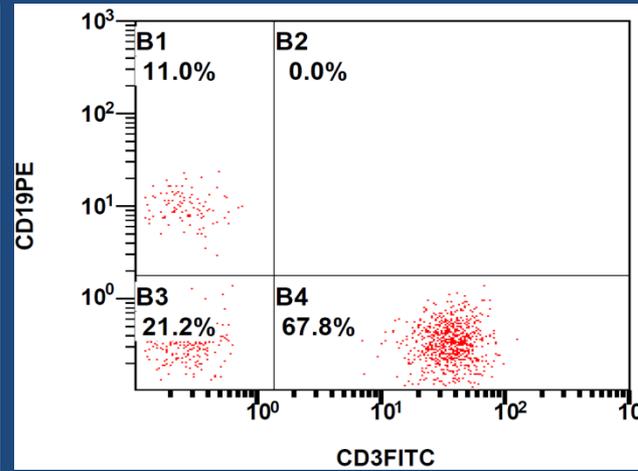
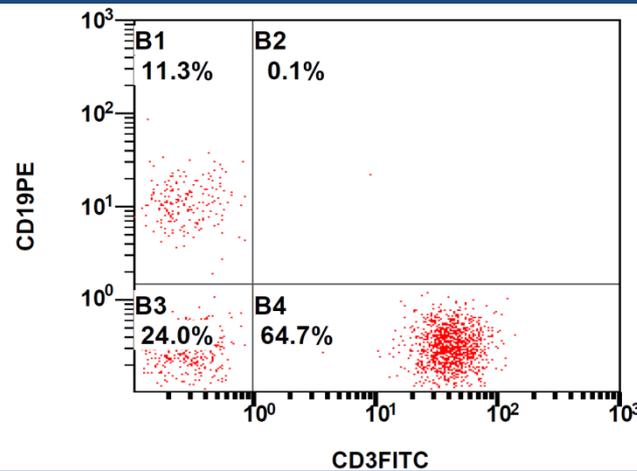
- CD19/CD5/CD27/CD45 – В1-, В2- и В-клетки памяти
- CD8/CD4/CD3/CD45 – субпопуляции Т-клеток
- CD16/CD56/CD3/CD45 – субпопуляции НК-клеток
- CD8/CD38/CD3/CD45 – активированные НК-клетки
- CD3/CD25/HLA-DR/CD45 – активированные Т-лимфоциты
- CD4/CD127/CD25/CD45 – Т-reg-клетки
- CD45RA/CD45RO/CD4/CD45 – активированные Т-хелперы и Т-клетки памяти
- TCR $\gamma\delta$ /TCR $\alpha\beta$ /CD3/CD45 -  $\alpha\beta$ - и  $\gamma\delta$ -Т-клетки

## ОСНОВНЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

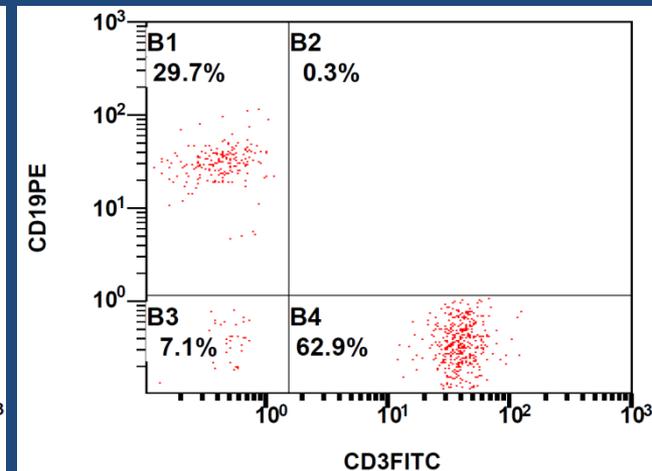
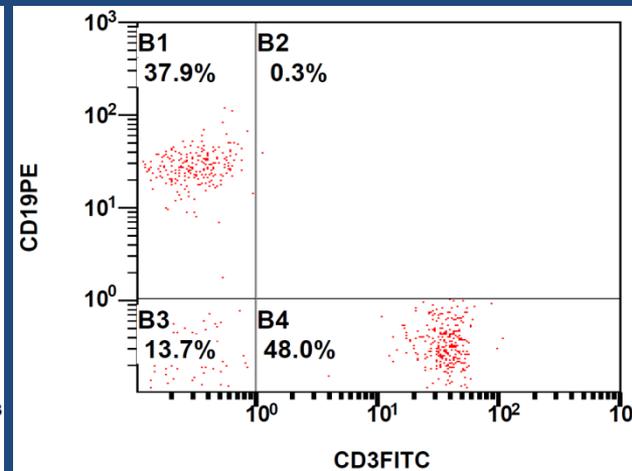
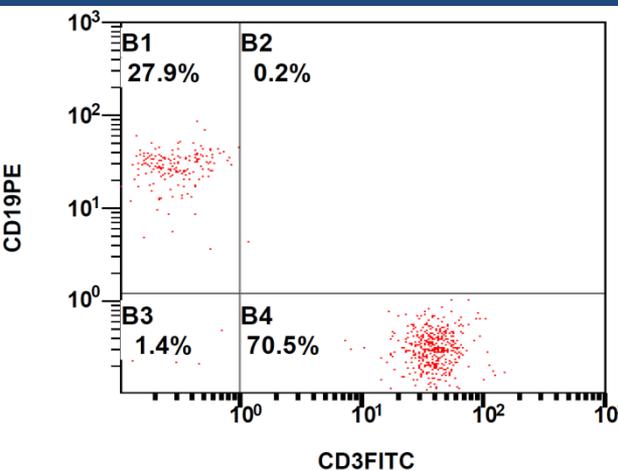
- Диагностика вторичных иммунодефицитов и иммунологический мониторинг больных с аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.
- Диагностика острых и хронических лейкозов, МДС, МОБ, вариантов бластного криза при ХМЛ.
- Диагностика сепсиса и иммунологический мониторинг больных с септическими состояниями различного генеза.
- Определение СКК на проточном цитометре при аутологичных пересадках костного мозга.
- Определение антигена HLA-B27/HLA-B7 методом ПЦ у больных с серонегативными спондилоартропатиями.
- Диагностика пароксизмальной ночной гемоглобинурии с помощью метода проточной цитометрии по международному протоколу «Flaer».

# Мониторинг относительного содержания В- и Т-лимфоцитов у больных с различными стадиями сепсиса

Больной Ш. с послеоперационным сепсисом



Больной М. с тяжелым сепсисом (пневмония+панкреатит)



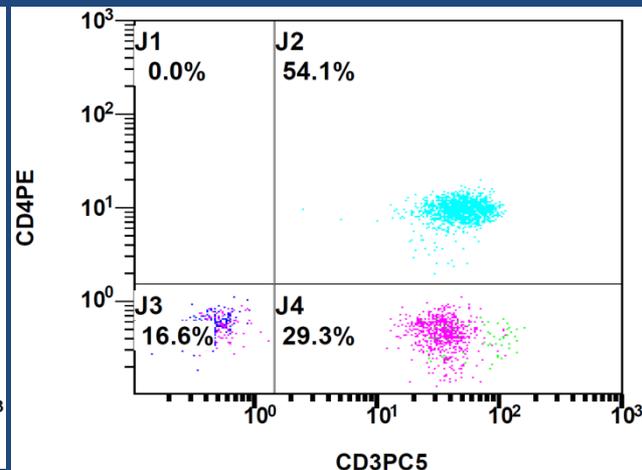
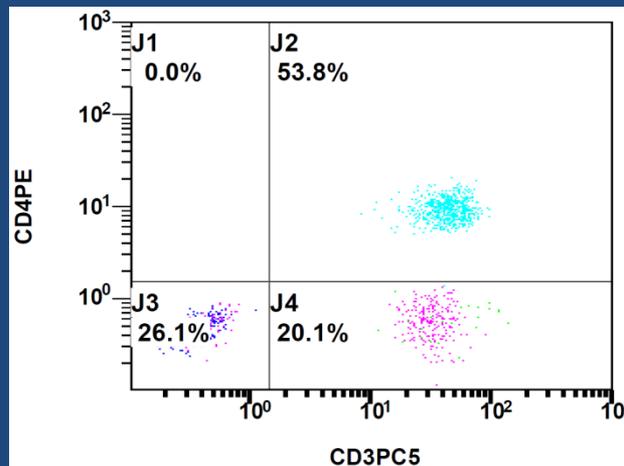
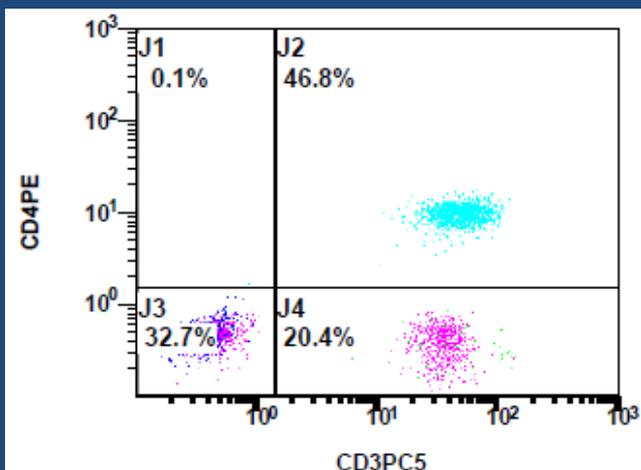
До сепсиса

Во время сепсиса

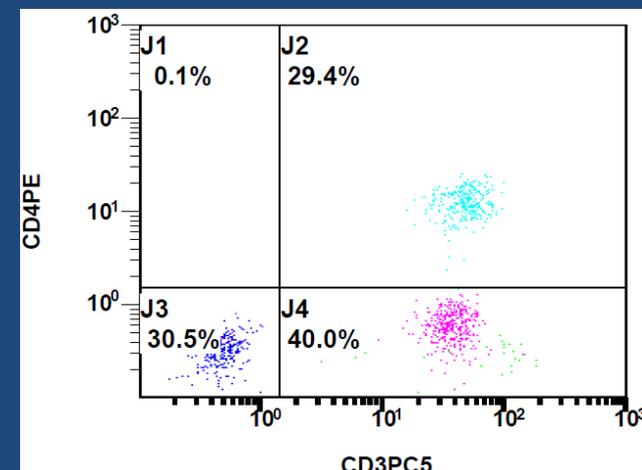
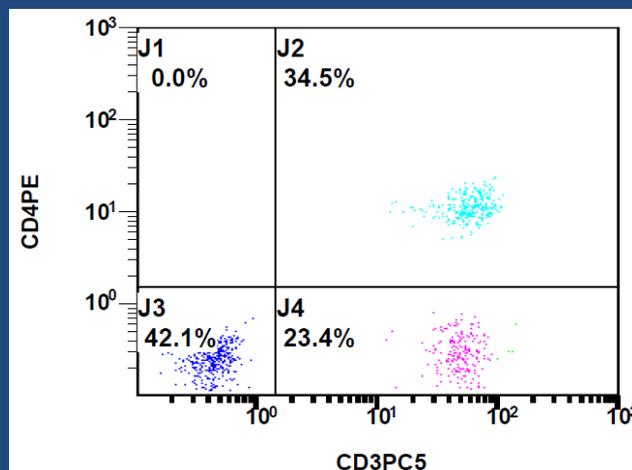
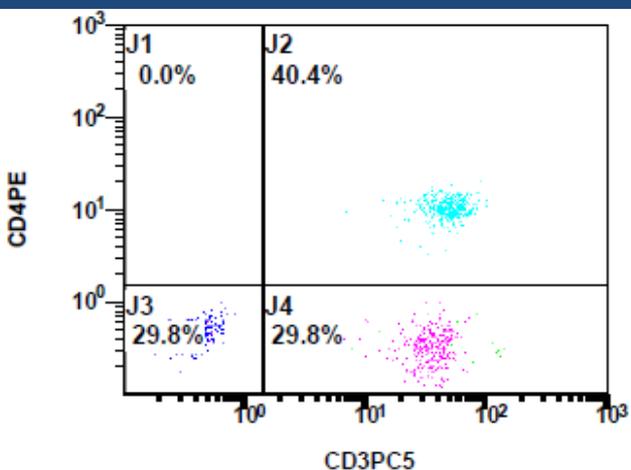
Через 2 нед. после сепсиса

# Мониторинг содержания Т-хелперов у больных с различными стадиями сепсиса

Больной Ш. с послеоперационным сепсисом



Больной М. с тяжелым сепсисом (пневмония+панкардит)



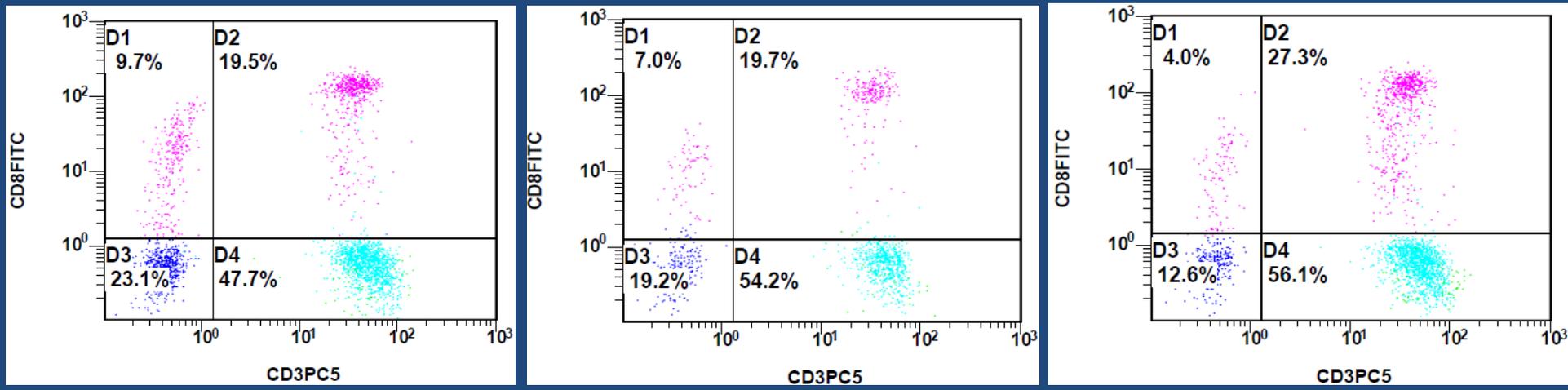
До сепсиса

Во время сепсиса

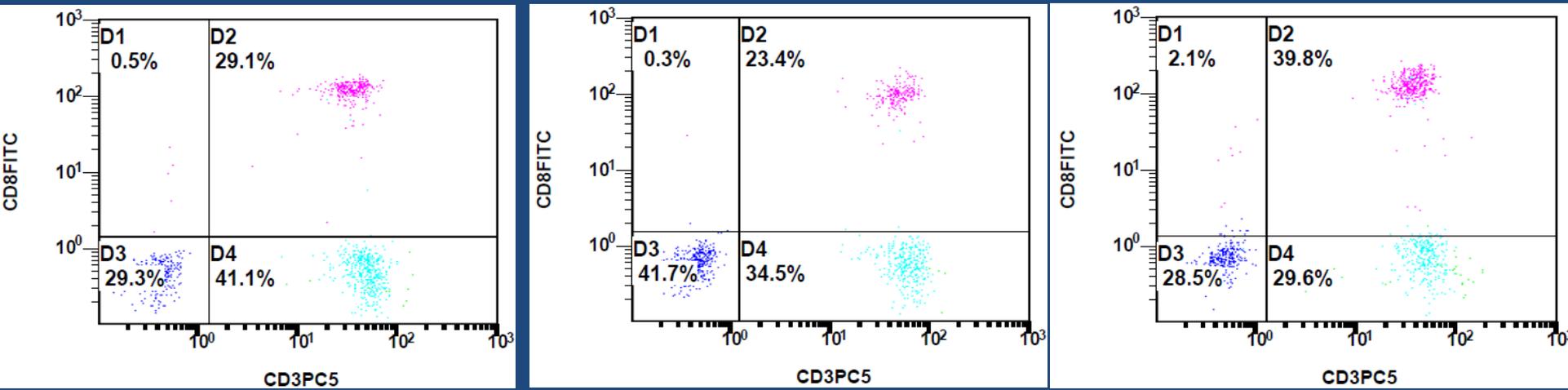
Через 2 нед. после сепсиса

# Мониторинг содержания цитотоксических Т-лимфоцитов у больных с различными стадиями сепсиса

## Больной Ш. с послеоперационным сепсисом



## Больной М. с тяжелым сепсисом (пневмония+панкардит)



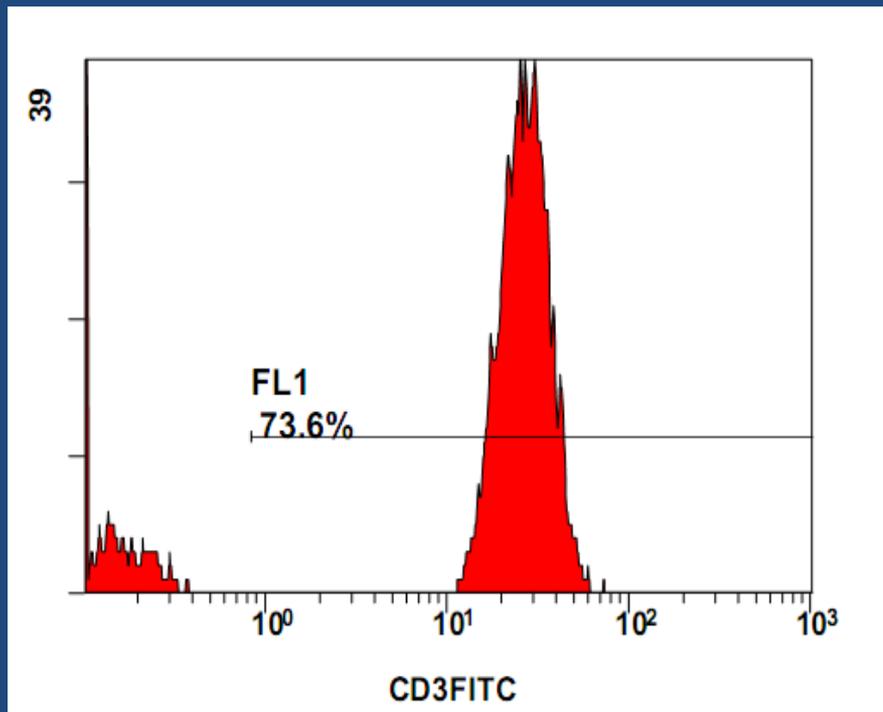
До сепсиса

Во время сепсиса

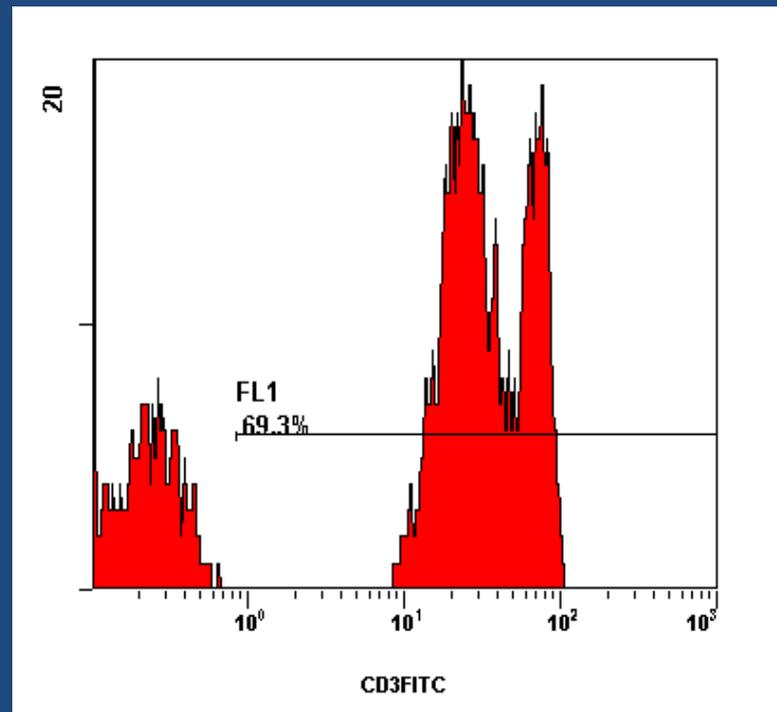
Через 2 нед. после сепсиса

# ВЫЯВЛЕНИЕ $\gamma\delta$ -Т-КЛЕТОК У ПАЦИЕНТКИ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРРА

Здоровый донор



Пациент с вирусом ЭБ +



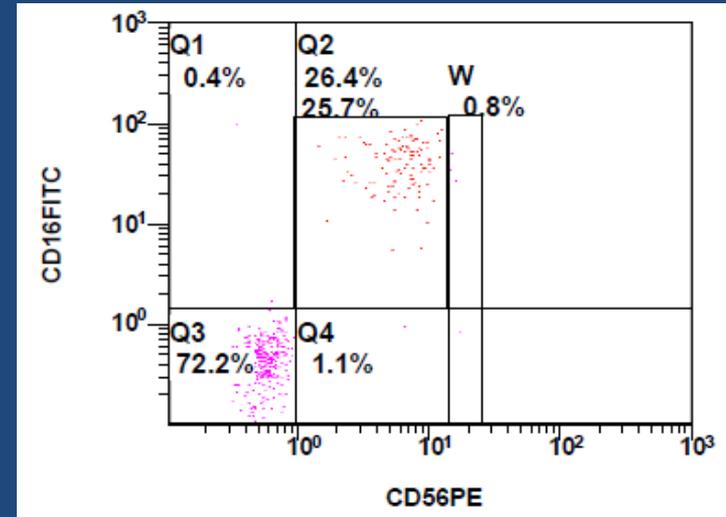
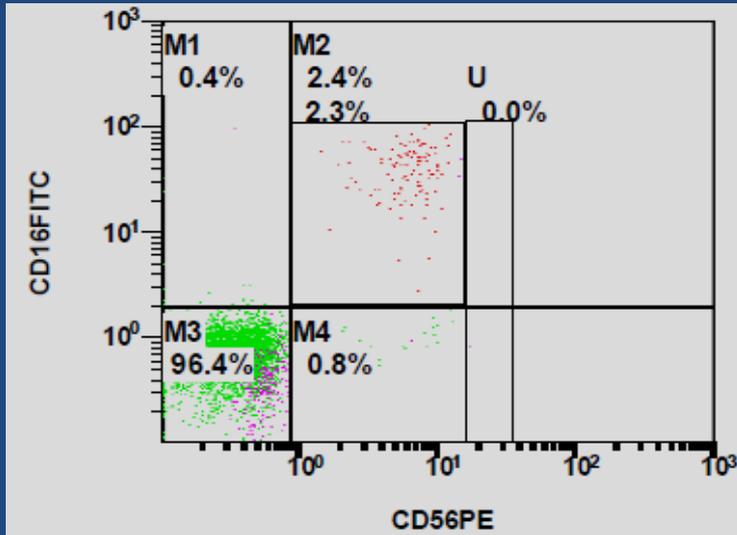
Однопараметрические гистограммы распределения Т-лимфоцитов по плотности CD3 на их поверхности.

**а** – гистограмма распределения CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у здорового донора;

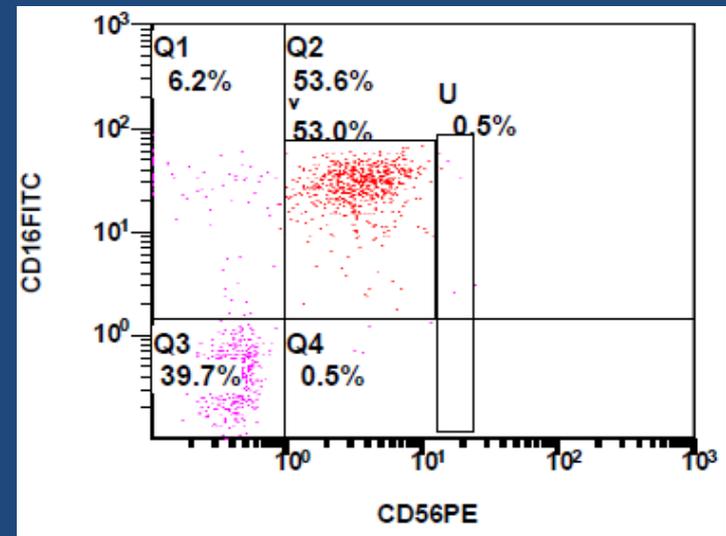
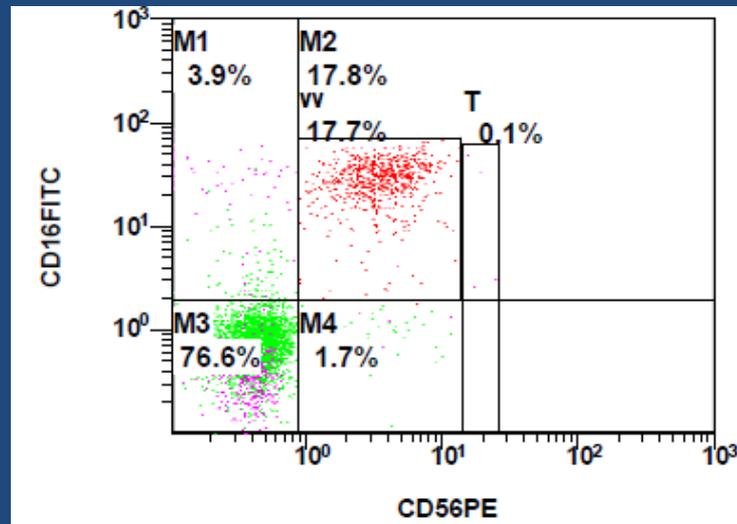
**б** – гистограмма с бимодальным распределением CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у пациентки с вирусом Эпштейна-Барра (пик справа соответствует CD3<sup>bright</sup> TCR $\gamma\delta$  Т-клеткам).

# ИССЛЕДОВАНИЕ НК-КЛЕТОК В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Больной с сепсисом

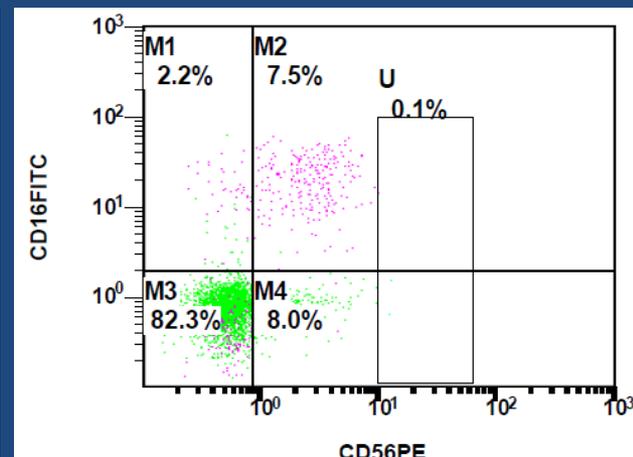
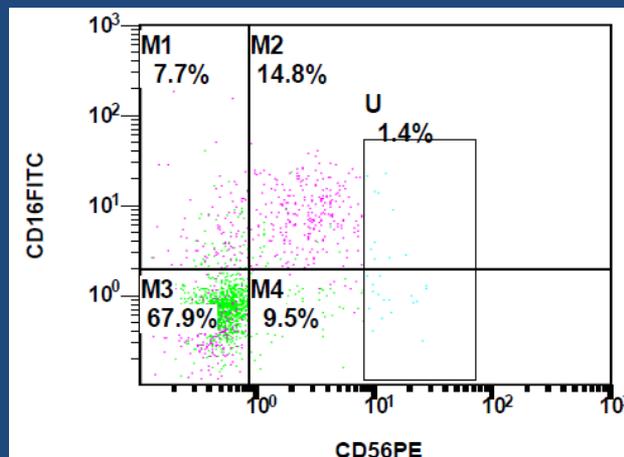
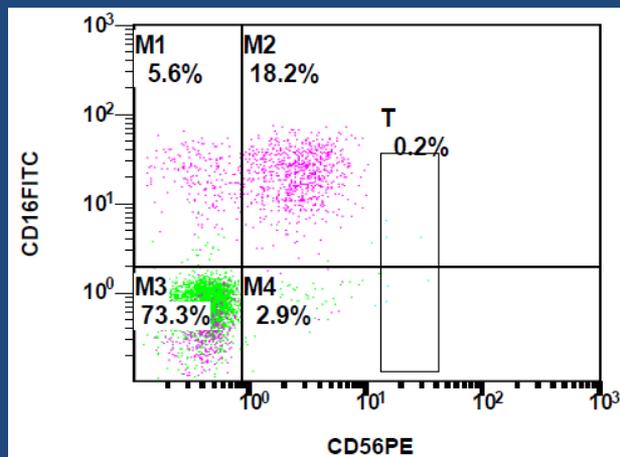


Больная с опухолью молочной железы (2 года после операции)

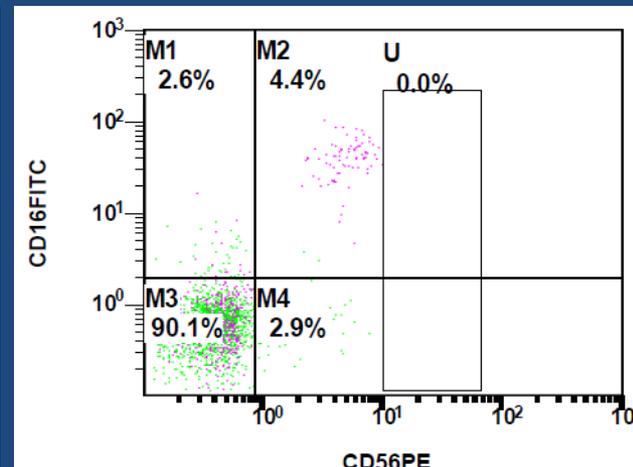
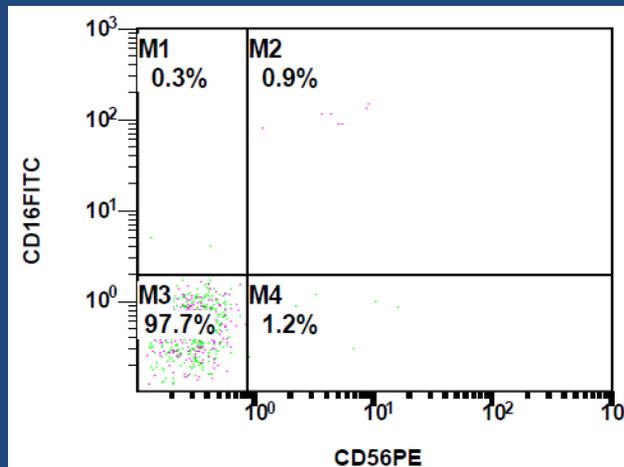
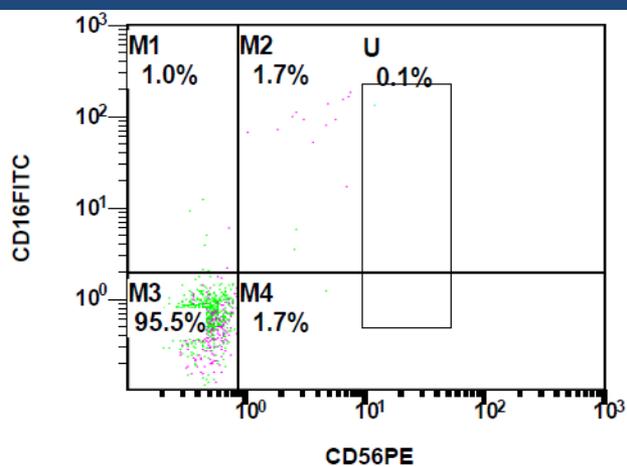


# Мониторинг содержания НК-клеток у больных с различными стадиями сепсиса

Больной Ш. с послеоперационным сепсисом



Больной М. с тяжелым сепсисом (пневмония+панкардит)



До сепсиса

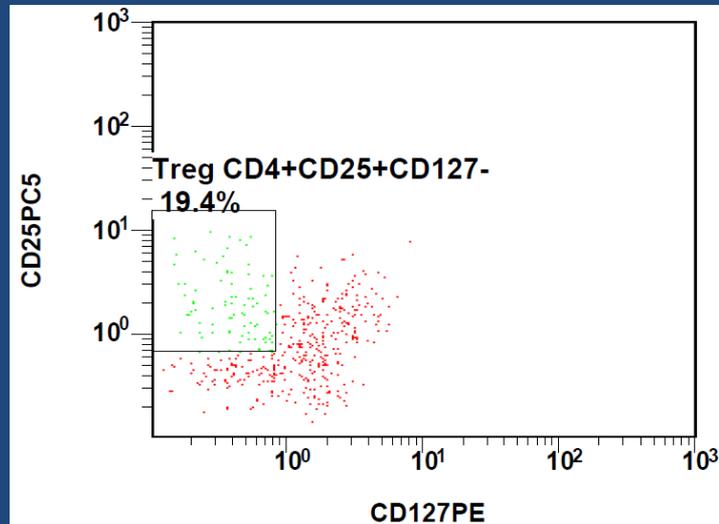
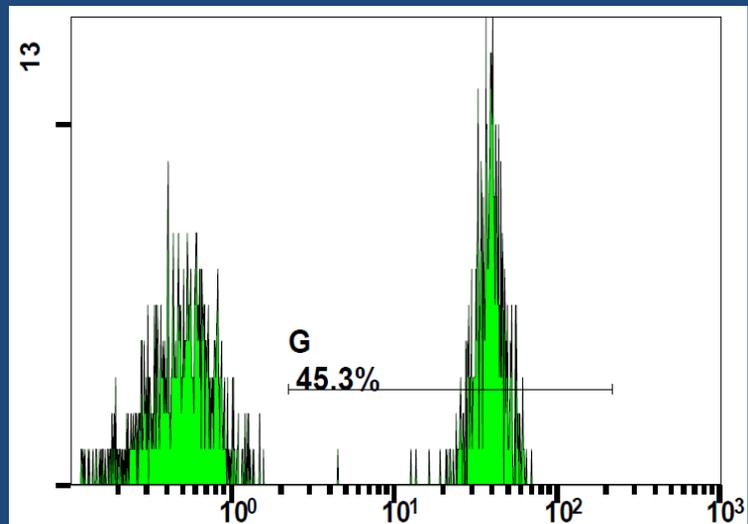
Во время сепсиса

Через 2 нед. после сепсиса

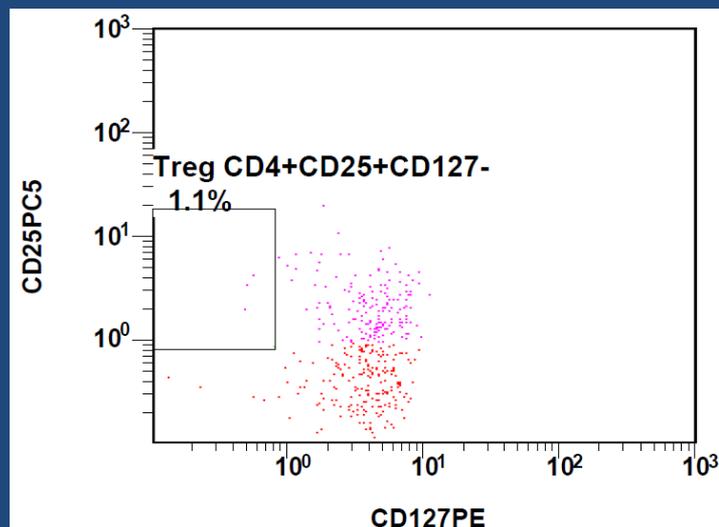
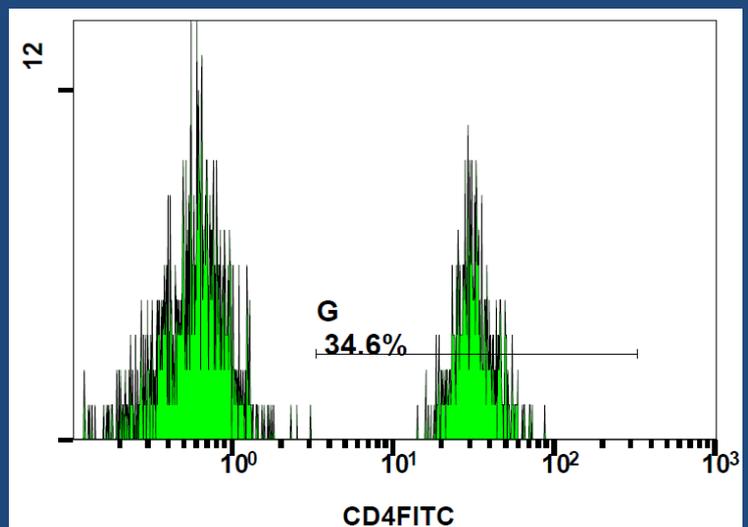
# Определение регуляторных Т-клеток

(CD4+CD25<sup>high</sup>CD127<sup>-</sup>) комбинацией МКА CD4/CD127/CD25/CD45 в процессе развития септической инфекции

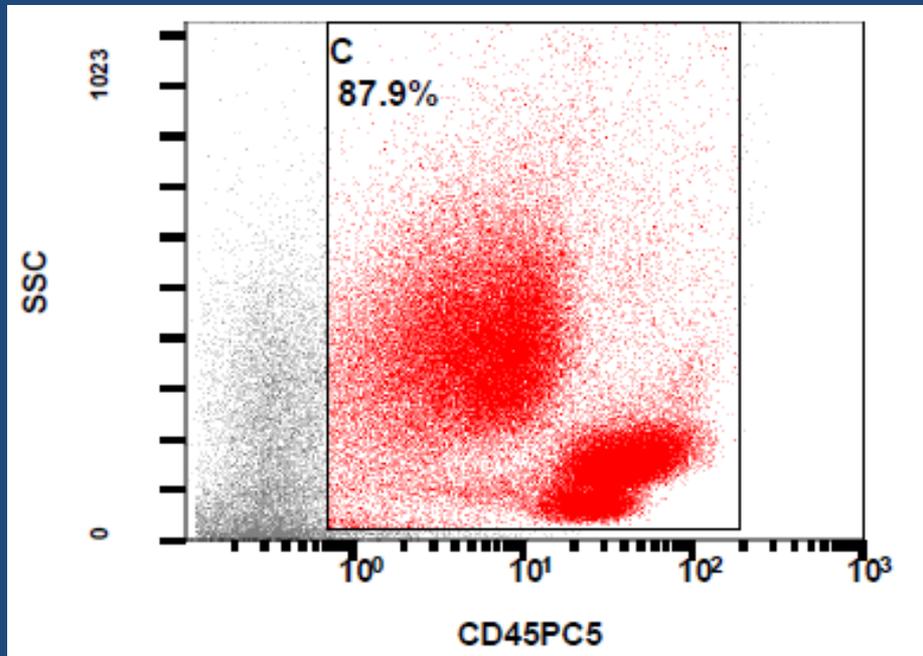
Угроза  
развития  
сепсиса



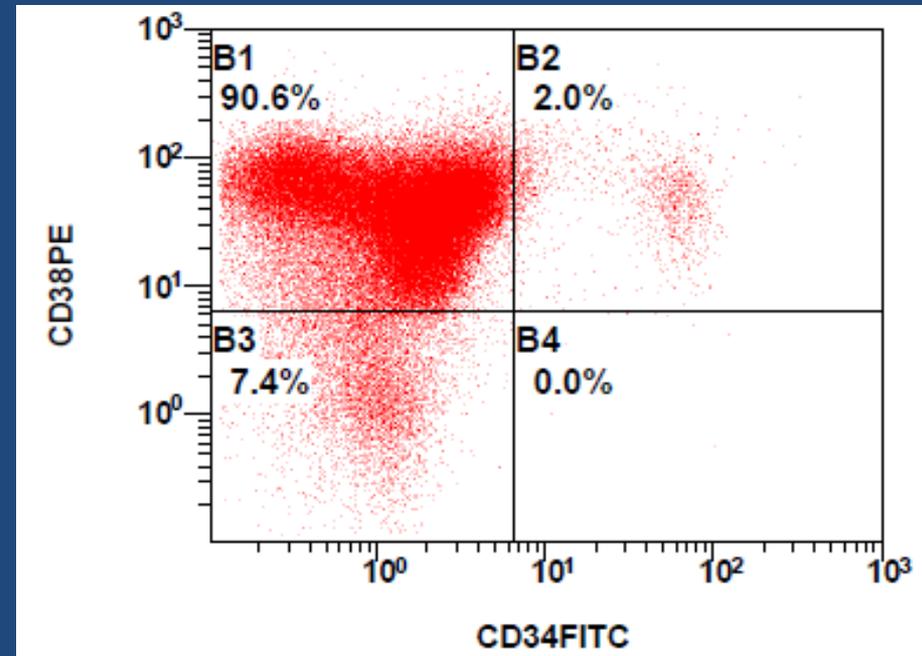
Развившийся  
сепсис  
(через 3 недели)



# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПРОДУКТЕ АФЕРЕЗА ПРИ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ



Выделение зоны мононуклеаров по CD45 (гейт C)



Определение CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> стволовых клеток (квадрант B2)

# **Взаимосвязь генетических аномалий и иммунофенотипических особенностей опухолевых бластов при лейкозах**

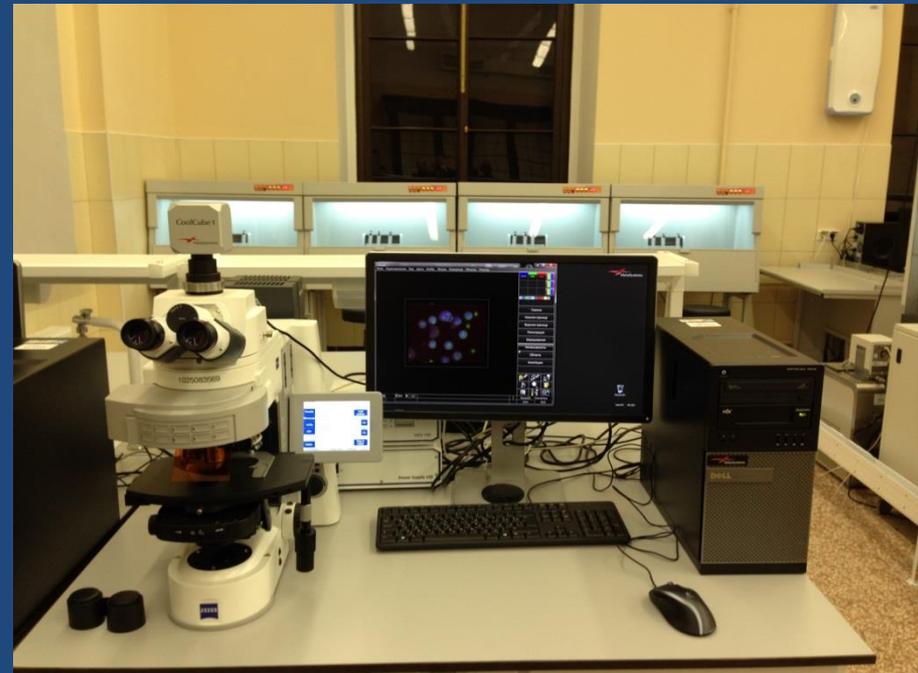
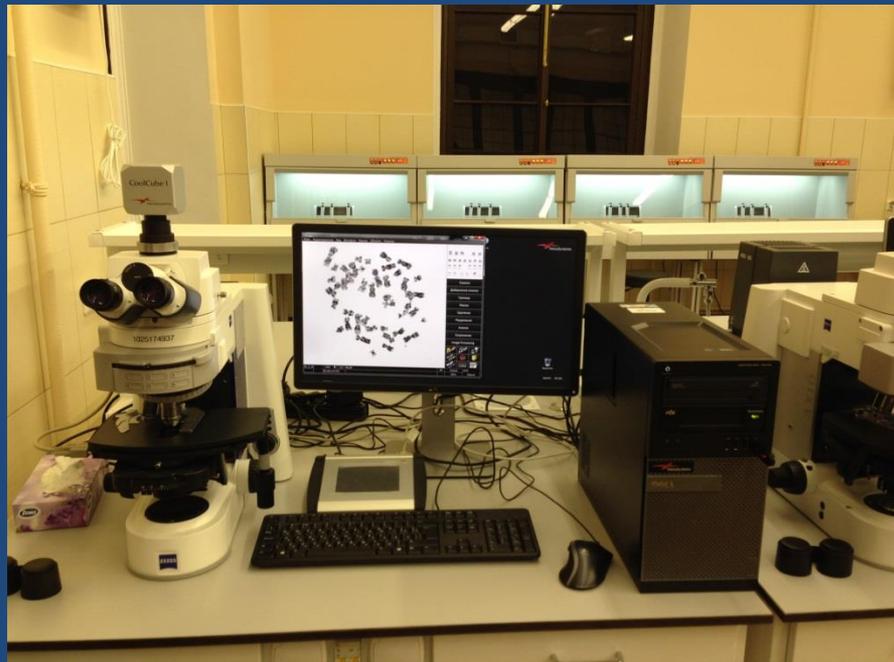
# Актуальность

1. Классификация ВОЗ опухолей кроветворных и лимфоидных тканей заменила устаревшие классификации FAB и EGIL и в настоящее время обеспечивает максимальную стандартизацию лабораторных исследований.
2. С 2001 года основным диагностическим критерием классификации ВОЗ в группах острых миелоидных (ОМЛ) и В-лимфобластных лейкозов становятся генетические исследования.
3. В 4-м издании классификации ВОЗ (2008) генетическая информация представлена значительно шире:

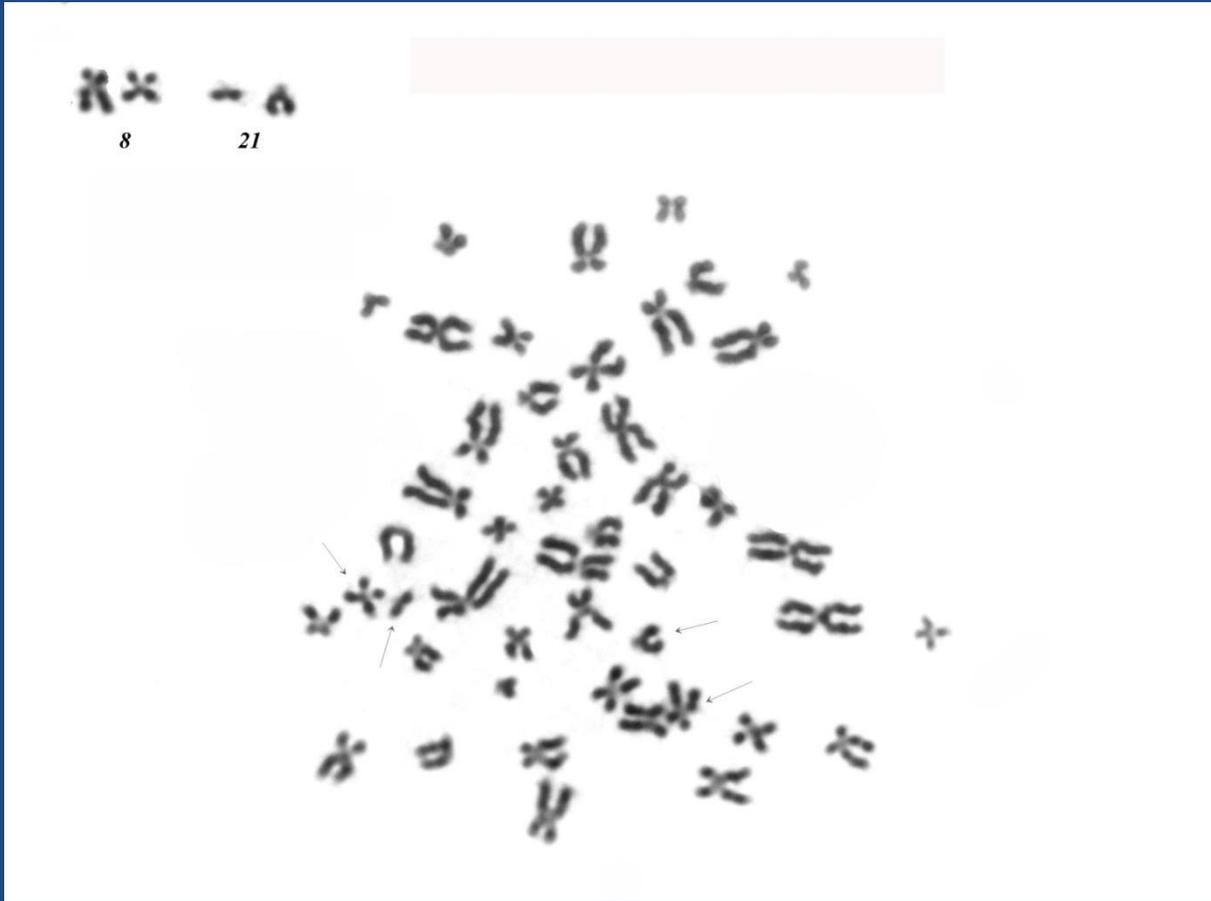
**В подгруппу острых миелоидных лейкозов с повторяющимися (рекуррентными) генетическими аномалиями были включены новые нозологические формы, а также «условные» нозологические формы, еще недостаточно полно охарактеризованные.**

- Выделение нозологических форм острых лейкозов с рекуррентными генетическими аномалиями целесообразно для стратификации больных по группам риска.

# Медицинская генетика



# Острый миелоидный лейкоз с $t(8;21)(q22;q22)$ ; *RUNX1-RUNX1T1*



Метафазная пластинка из культуры клеток периферической крови больного ОМЛ с кариотипом  $46, XY, t(8;21)(q22;q22)$

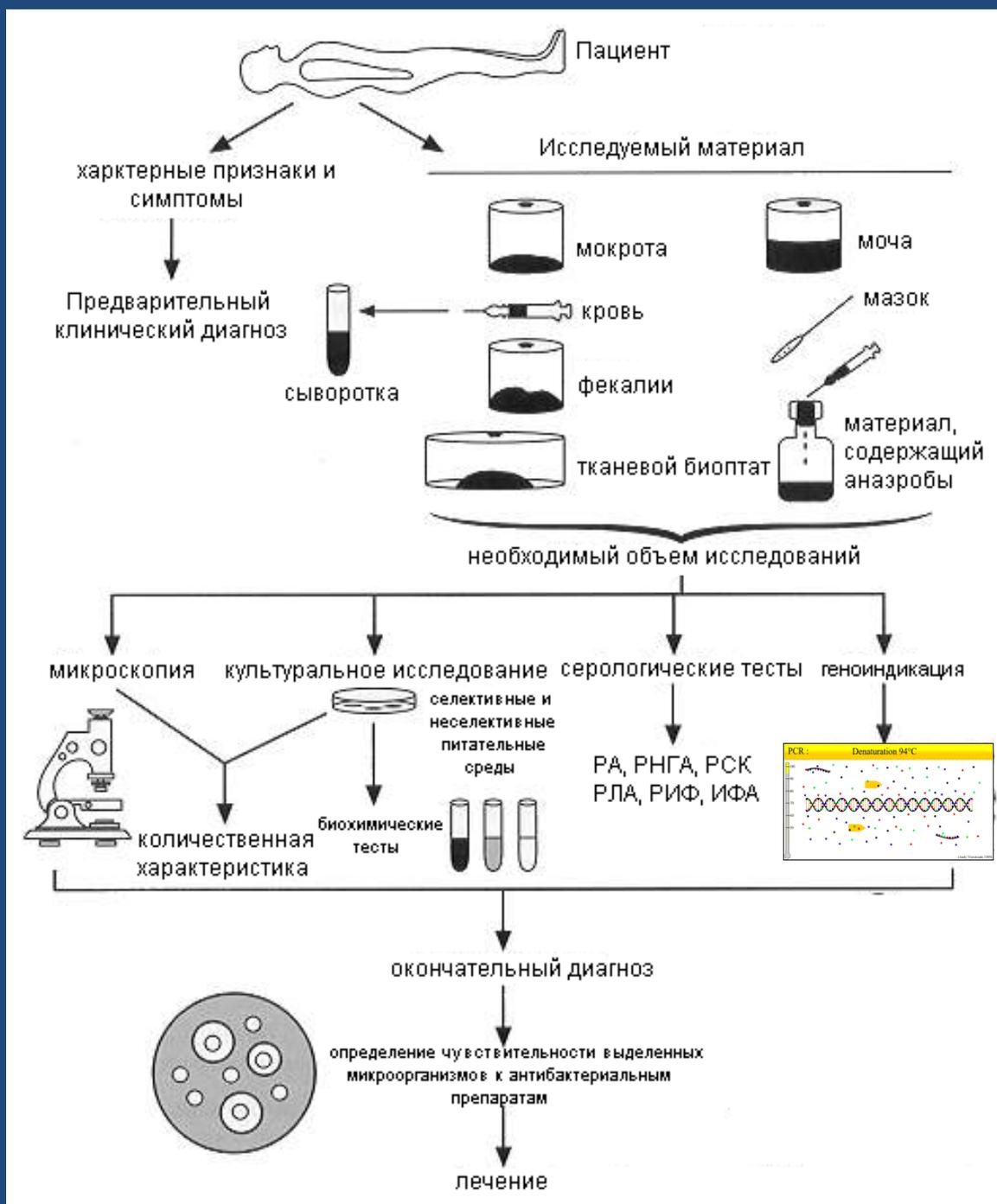
*Острый миелоидный лейкоз с inv(16) или  
t(16;16)(p13.1;q22); СРFB-МУН11*



*Метафазная пластинка из культуры клеток периферической  
крови больного ОМЛ с кариотипом 46, XY, t(16;16)*

# Иммунофенотипический анализ с помощью современной мультипараметрической проточной цитометрии позволяет:

- устанавливать линейную принадлежность, стадию дифференцировки и функциональное состояние клеток по набору мембранных и цитоплазматических антигенов;
- выявлять aberrantные иммунофенотипы лейкозных клеток ассоциированные с конкретными хромосомными нарушениями;
- заранее предполагать наличие определенной генетической аномалии и предварительно дифференцировать различные варианты острого миелоидного лейкоза.



# Проблемные вопросы при серологической диагностике инфекционных заболеваний

- Активный процесс или анамнестическая инфекция?
- Реинфекция или рецидив?
- Контроль излеченности?
- Целесообразность вакцинации?
- Эффективность поствакцинального иммунитета?
- Нейроинфекция?
- Врожденная инфицированность?

# Контроль эффективности лечения сифилиса

Диагностическая задача	Используемые серологические показатели, ИФА	Результаты исследования в динамике	интерпретация	Примечания
Динамика противотрпонемных иммуноглобулинов	IgG1-, IgG3-, IgM-антитела к антигену 41 кД	Отрицательная динамика уровней антител	Лечение эффективно	
		Уровни антител не снижаются	Лечение не эффективно	Целесообразно определение тактики ведения пациента в процессе комплексного динамического наблюдения

## Уточнение варианта течения сифилиса (имеются сведения об анамнестической инфекции)

Диагностическая задача	Используемые серологические показатели, ИФА	Результаты исследования (количество выявленных серологических маркеров)	интерпретация (прогноз сохранения жизнеспособного возбудителя)	Примечания
Выявление причины сохранения положительных результатов в серологических тестах (после специфической терапии)	IgG1-, IgG3-, IgG4-, IgM-антитела к антигенам 15, 17, 41, 47 кД	7 и более	положительный	Необходимо лечение (скрытое течение сифилиса)
		5-6	сомнительный	Тактика определяется при динамическом наблюдении
		4 и менее	отрицательный	Лечение не целесообразно

## Уточнение варианта течения сифилиса (возможно развитие нейросифилиса)

Диагностическая задача	Используемые серологические показатели, ИФА	Результаты исследования	интерпретация	Примечания
Верификация нейроинфекции	Спектр трепонемных антигенов 15, 17, 41 и 47 кД, реагирующих с СК и СМЖ	Антитела в СМЖ отсутствуют	НС исключается	корректировка лечения не требуется
		Выявлены антитела в СМЖ (спектр антигенов соответствует результатам исследования СК)	НС исключается (Позитивность ИФА обусловлена трансмембранным переносом сывороточных иммуноглобулинов)	корректировка лечения не требуется
		Выявлены антитела в СМЖ (спектр антигенов отличается от результатов исследования СК)	Подтверждается наличие НС	Требуется лечение согласно форме нейроинфекции

## Определение длительности течения инфекции при сифилисе (уравнение регрессии)

$$X = 4,64 - 4,16 \cdot X_1 + 4,33 \cdot X_2 + 0,67 \cdot X_3 - 6,87 \cdot X_4 + 11,62 \cdot X_5 - 4,22 \cdot X_6 + 3,11 \cdot X_7 + 1,78 \cdot X_8 - 3,54 \cdot X_9 - 0,09 \cdot X_{10}$$

где:

$X$  - длительность течения сифилиса, мес.;

$X_1$  - уровень IgG3-антител к антигену p15, ед.ОП;

$X_2$  - уровень суммарных антител к антигену p15, ед.ОП;

$X_3$  - уровень IgG1-антител к антигену p17, ед.ОП;

$X_4$  - уровень IgG3-антител к антигену p17, ед.ОП;

$X_5$  - уровень IgG4-антител к антигену p17, ед.ОП;

$X_6$  - уровень IgG-антител к антигену p17, ед.ОП;

$X_7$  - уровень суммарных антител к антигену p17, ед.ОП;

$X_8$  - уровень IgG1-антител к антигену Sif-13 (TmpA) , ед.ОП;

$X_9$  - уровень IgA-антител к антигену Sif-13 (TmpA), ед.ОП;

$X_{10}$  - скорость оседания эритроцитов, мм/час.

## Наиболее информативные показатели для дифференциальной диагностики сифилиса:

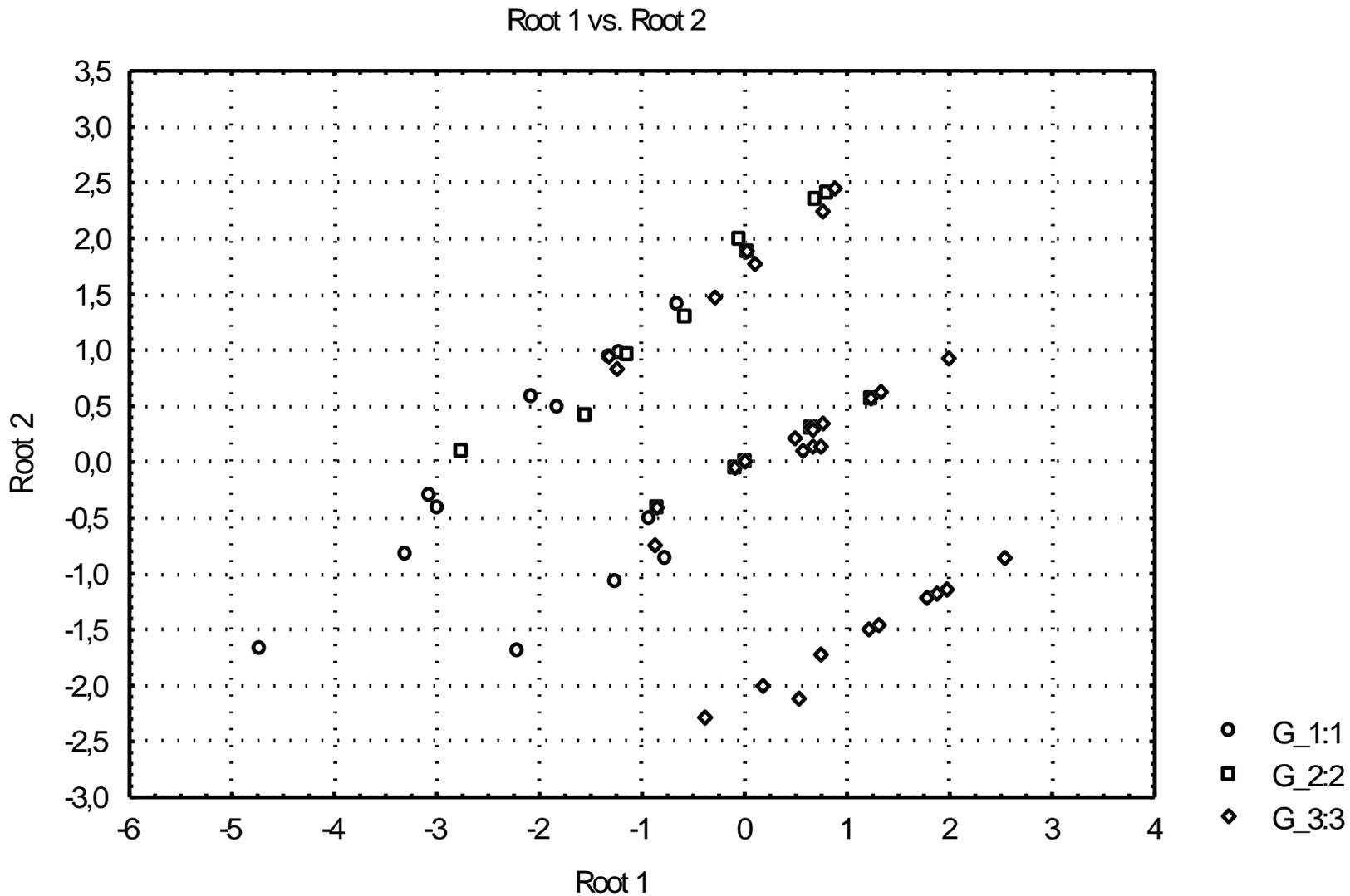
- X9** - Уровни IgG1-антител к антигену 41 кД (ед. ОП);
- X2** - Количество серологических маркеров в ИФА (всего 16);
- X7** - Уровни IgG1-антител к антигену 17 кД (ед. ОП);
- X4** - Динамика комплекса серологических реакций (при исследовании парных сывороток крови с интервалом 3 мес.);
- X10** - Уровни IgG3-антител к антигену 41 кД (ед. ОП).

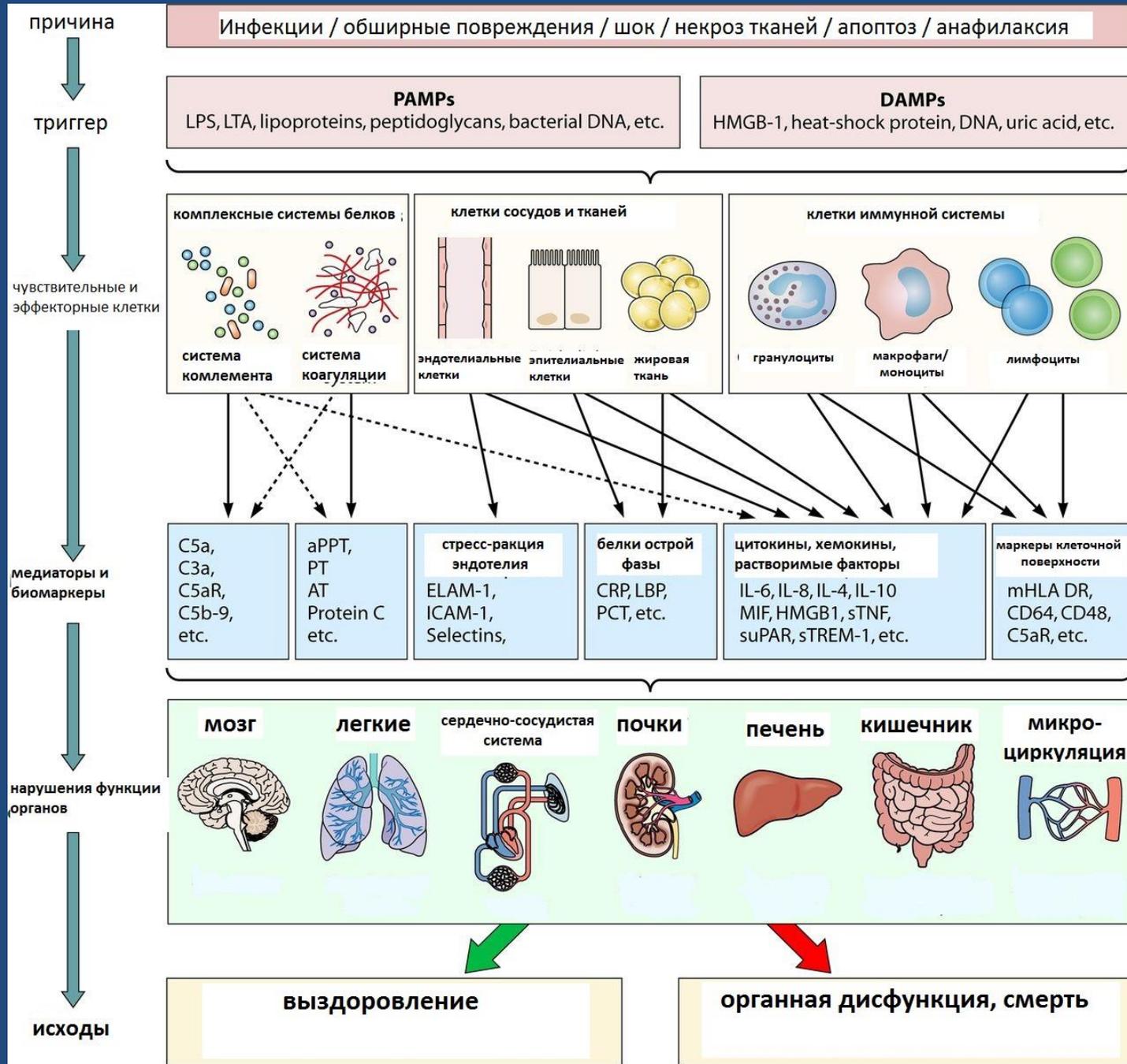
**Формулы линейно-дискриминантных функций,  
рассчитываемые для дифференциальной диагностики  
сифилиса:**

$$F_1 = -0,67x_9 - 0,32x_2 + 0,5x_7 - 0,43x_4 - 0,33x_{10};$$

$$F_2 = -0,47x_9 + 1,05x_2 + 0,24x_7 - 0,21x_4 - 0,29x_{10}.$$

# Решение диагностической задачи:









# Биомаркеры сепсиса

- цитокины, хемокины
- клеточные
- рецепторные
- гемокоагуляционные
- ассоциированные с повреждением эндотелия
- вызывающие вазодилатацию
- органной дисфункции
- белки острой фазы

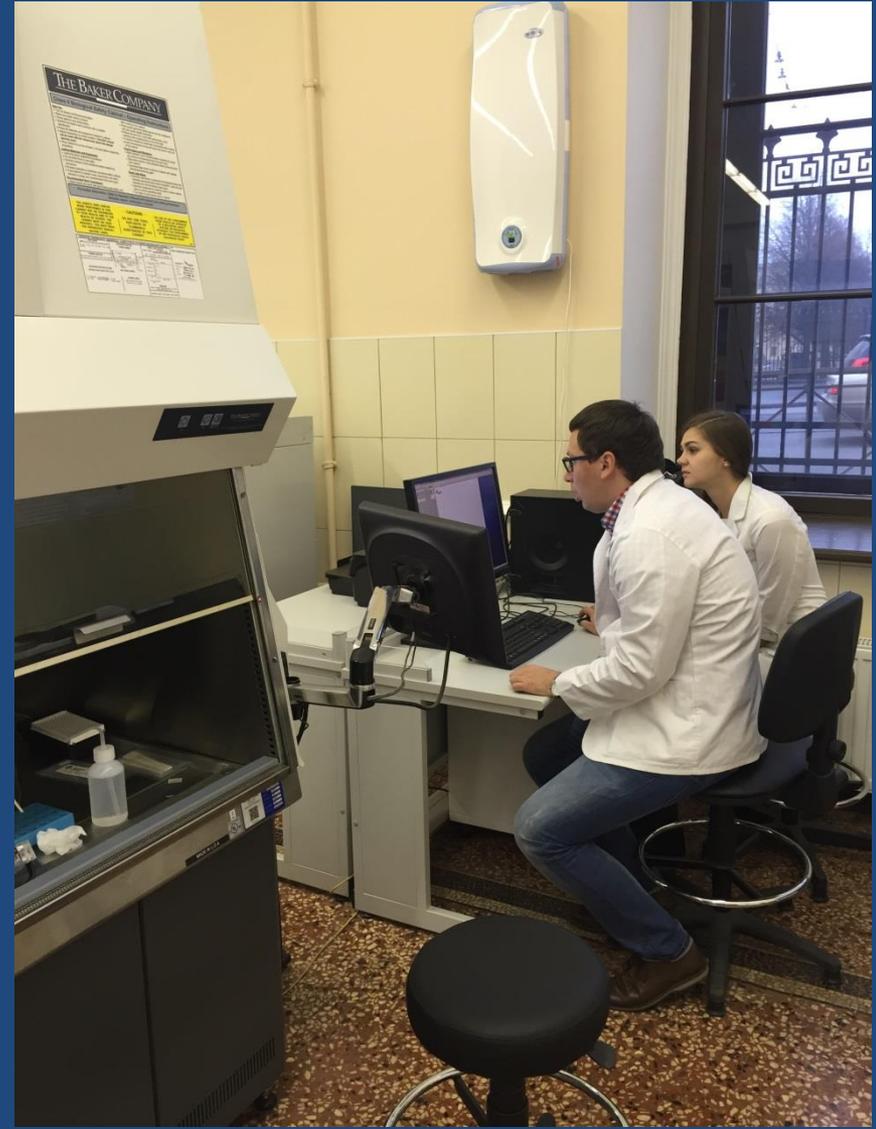
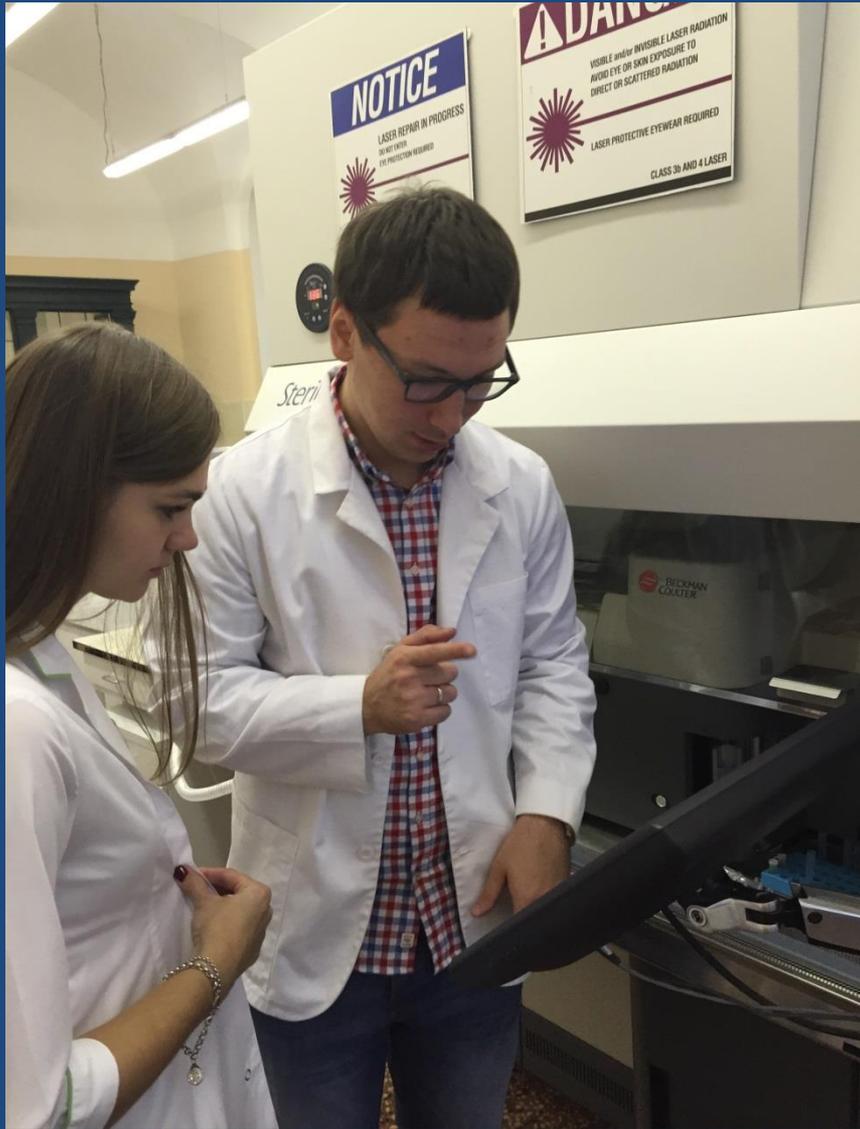
## **«ИДЕАЛЬНЫЙ МАРКЕР» СЕПСИСА**

**ДОЛЖЕН ОБЛАДАТЬ СЛЕДУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ:**

- 1. ВЫСОКОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ К РАЗВИТИЮ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА (ЭКСПРЕССИЯ ДОЛЖНА СТРОГО КОРРЕЛИРОВАТЬ С РАЗВИТИЕМ ПРОЦЕССА)**
- 2. ВОЗМОЖНОСТЬ МОНИТОРИНГА ПРИ ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ.**
- 3. ПОЯВЛЕНИЕ ДОЛЖНО ПРЕДШЕСТВОВАТЬ КЛИНИЧЕСКОМУ ДИАГНОЗУ (ПРОЯВЛЕНИЮ ЗАБОЛЕВАНИЯ).**

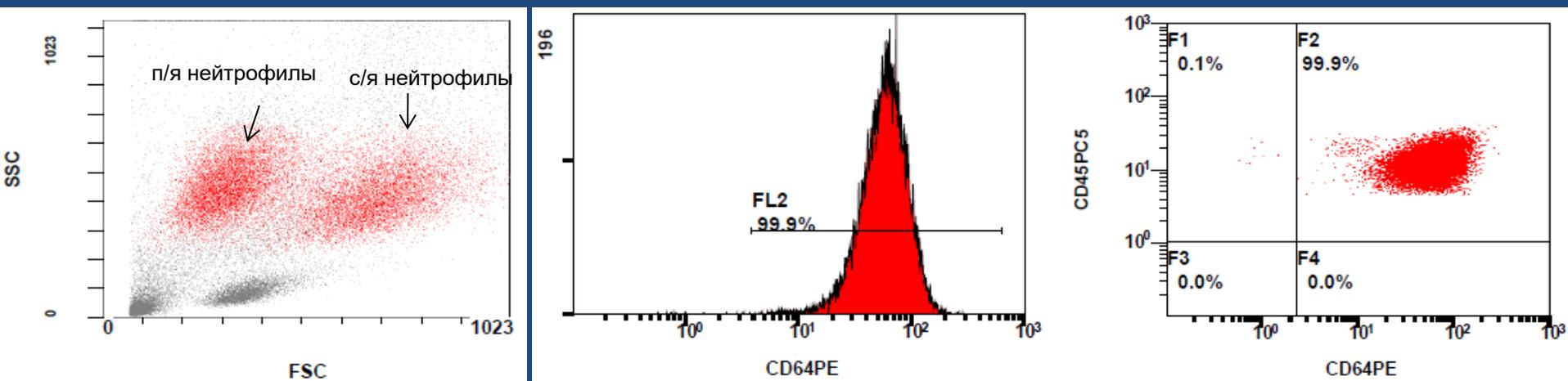
# Иммунологические маркеры сепсиса (Ch.Pierrakos, J.-L.Vincen. 2010; D. Gude, 2012)

Показатель	Информативность показателя	Чувствительность, специфичность
<b>ЦИТОКИНЫ</b>		
Интерлейкин -4	Коррелирует с развитием сепсиса.	
Интерлейкин -6	Прогноз исхода.	Чувствительность, специфичность <90 %
Интерлейкин -8	Коррелирует с развитием сепсиса.	Чувствительность, специфичность >90 %
Интерлейкин -10	Коррелирует с развитием сепсиса.	Чувствительность>90%, специфичность <90 %
ФНО-α	Коррелирует с развитием сепсиса. Прогноз исхода.	
Антагонист рецептора интерлейкина-1	Коррелирует с развитием сепсиса.	Чувствительность, специфичность <90 %
<b>CD – МАРКЕРЫ</b>		
CD11b	Коррелирует с развитием сепсиса.	
CD14 (клеточный и растворимый)	Коррелирует с развитием сепсиса. Прогноз исхода.	
<b>CD64</b>	<b>Ранняя диагностика сепсиса.</b> <b>Коррелирует с развитием сепсиса.</b> <b>Этиология сепсиса (отличие от лихорадки аутоиммунного генеза; вирусная от бактериальной).</b>	
HLA-DR (клеточный)	Коррелирует с развитием сепсиса. Прогноз исхода. Коррекция терапии.	Чувствительность, специфичность <90 %
<b>КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ</b>		
Триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-1(TREM-1) растворимый и клеточный	Ранняя диагностика сепсиса. Коррелирует с развитием сепсиса.	Чувствительность, специфичность >90 %

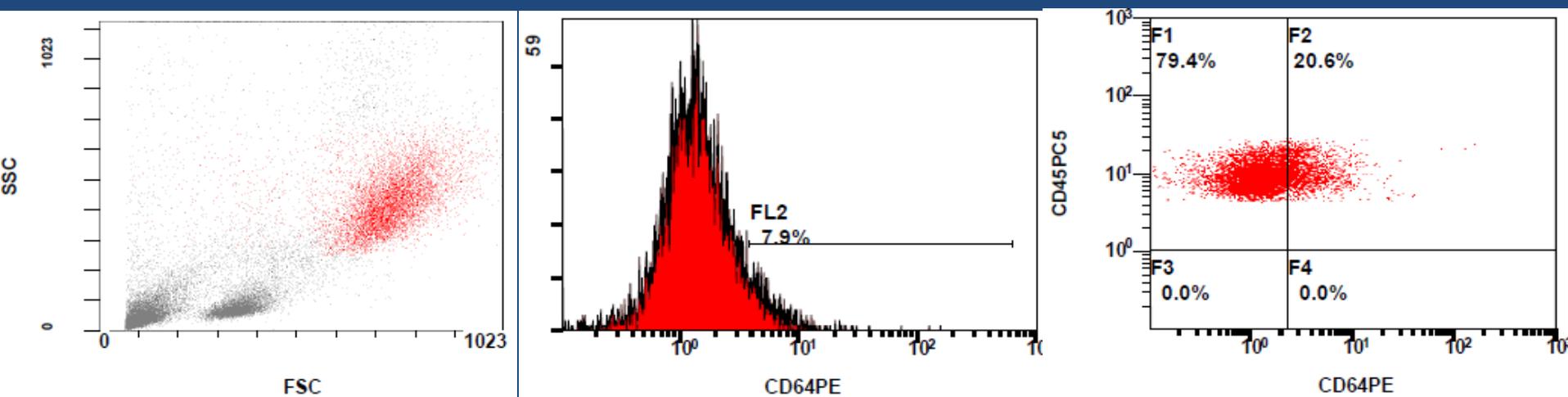


# ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА ПО ИНТЕНСИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНА CD64 НА АКТИВИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛАХ

Яркая степень экспрессии CD64 - характерный признак сепсиса

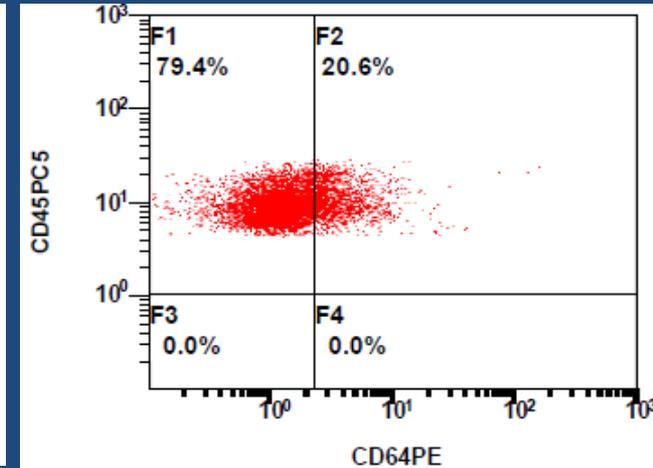
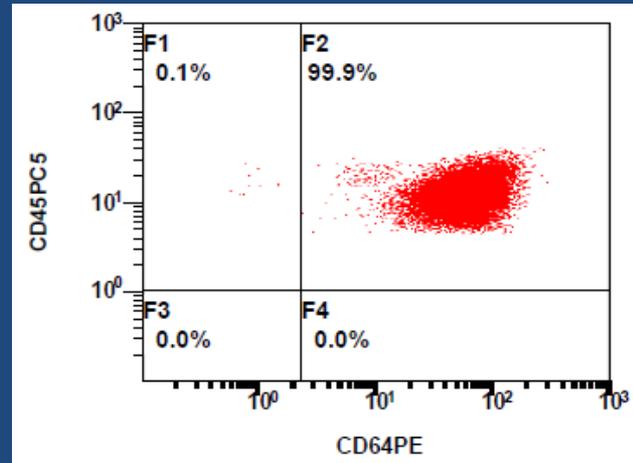


Слабая степень экспрессии CD64 через 2 нед. после выхода больного из сепсиса

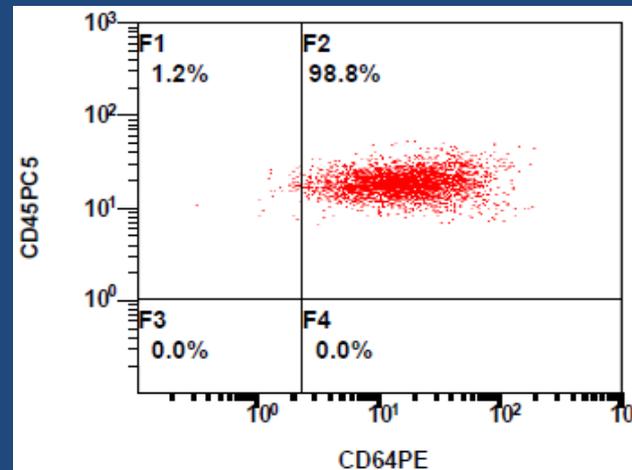
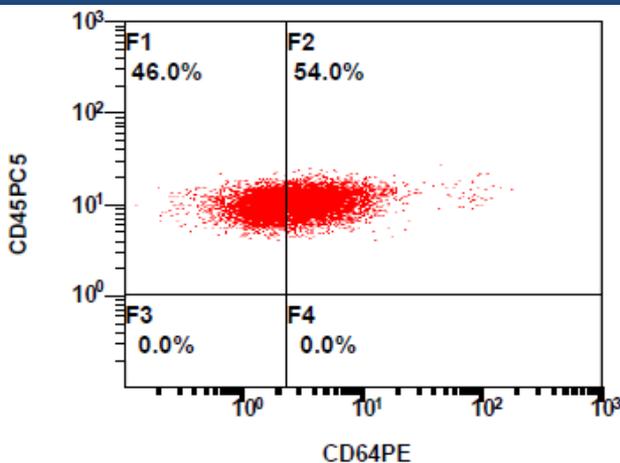


# Оценка интенсивности экспрессии антигена CD64 активированными нейтрофилами у больных с различными стадиями сепсиса

Больной Ш. с послеоперационным сепсисом



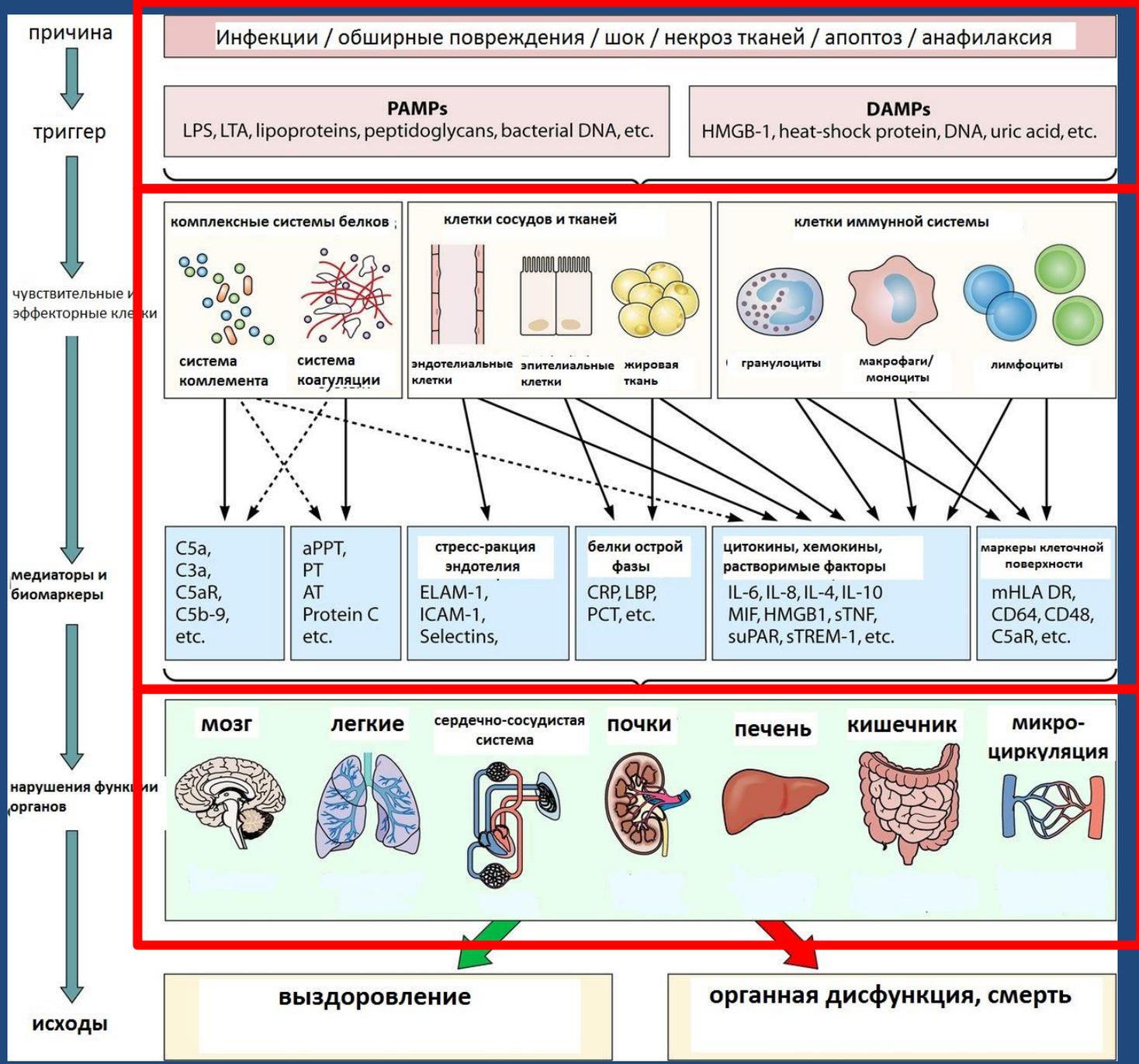
Больной М. с тяжелым сепсисом (пневмония+панкардит)



За 3,5 нед. до сепсиса

Во время сепсиса

Через 2 нед. после сепсиса



1

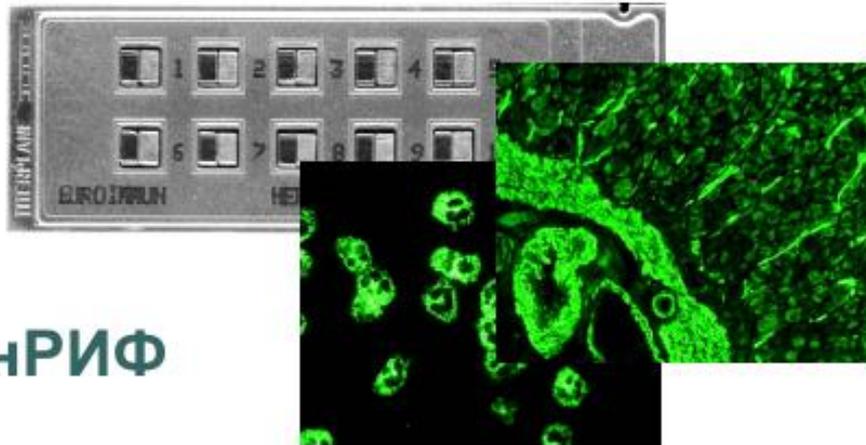
2

3

# Диагностика аутоиммунных заболеваний

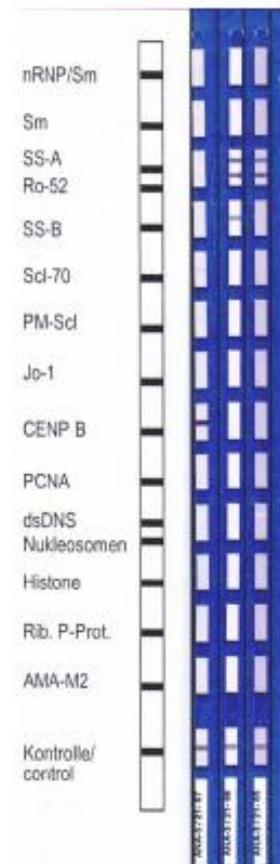
## Методические возможности выявления антител

ИРИФ



ИФА

БЛОТ

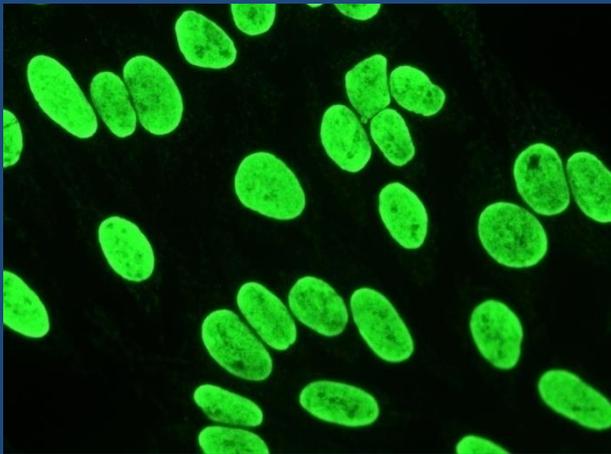


# Диагностика аутоиммунных заболеваний

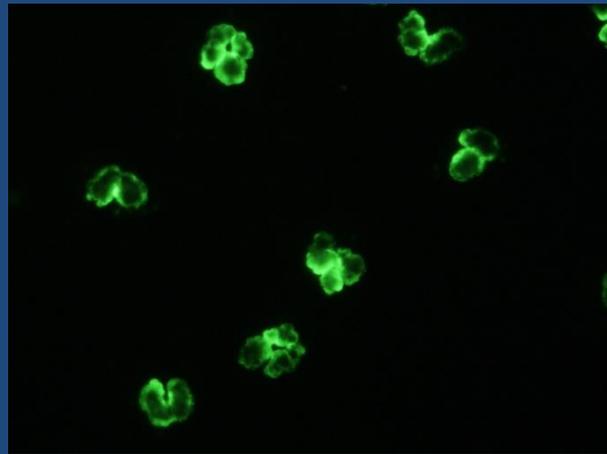
## Непрямая иммунофлюоресцентная реакция

Антинуклеарный фактор (АНФ)

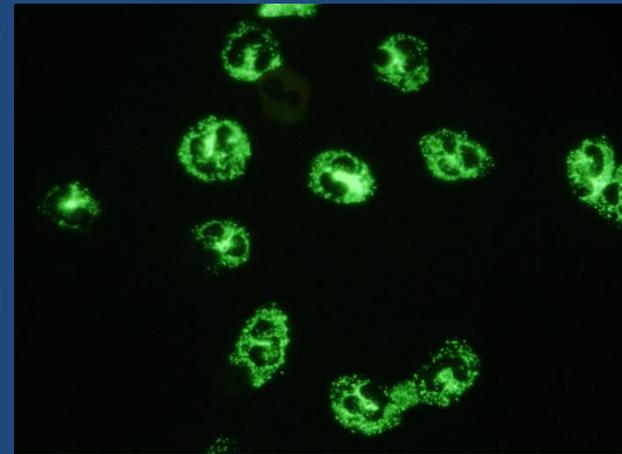
Антинейтрофильные антитела (АНЦА - цитоплазматические, перинуклеарные)



Антинуклеарный фактор на HEp-2 линии с гомогенным типом свечения



Антитела к цитоплазме нейтрофилов, перинуклеарное свечение

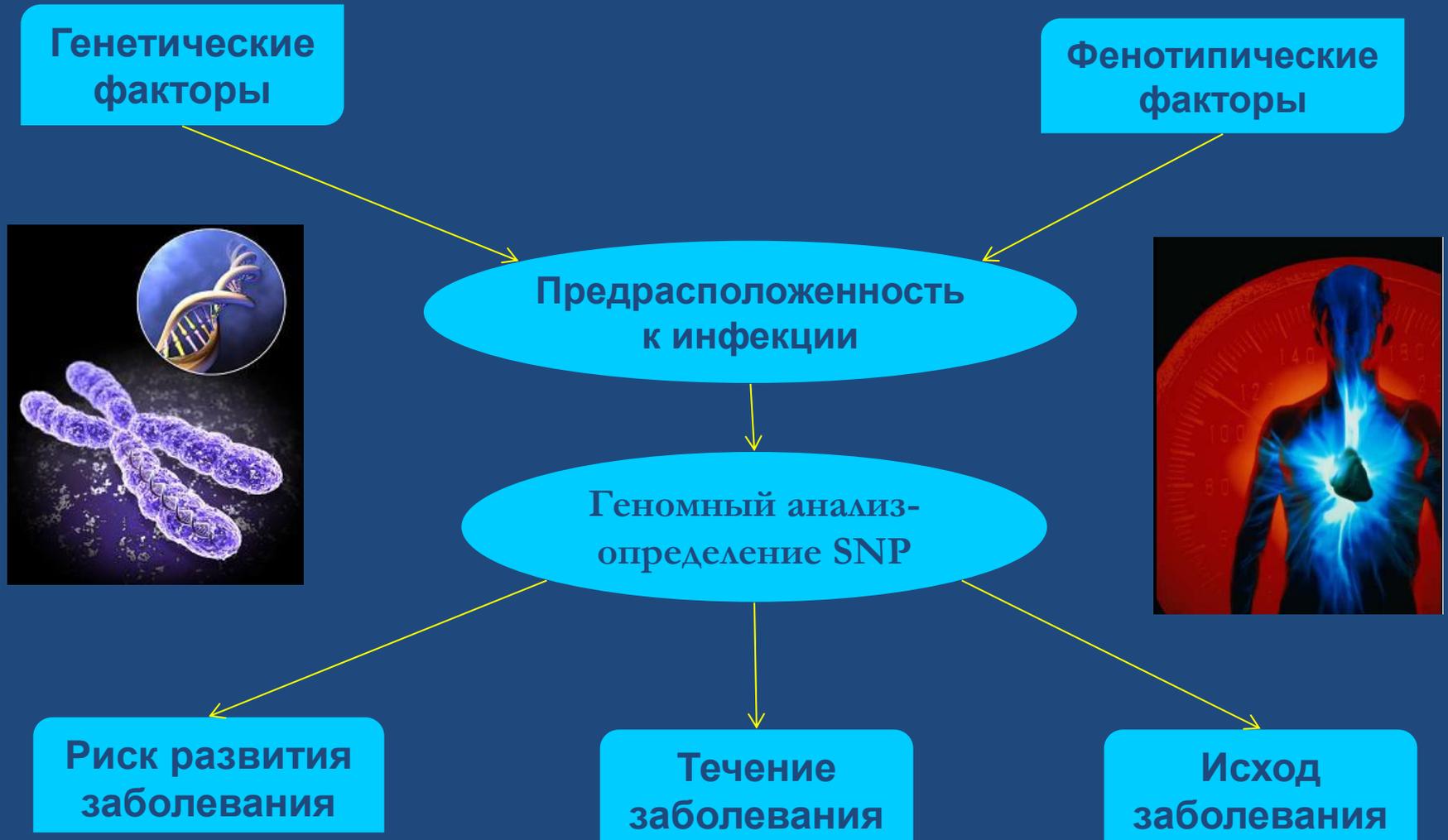


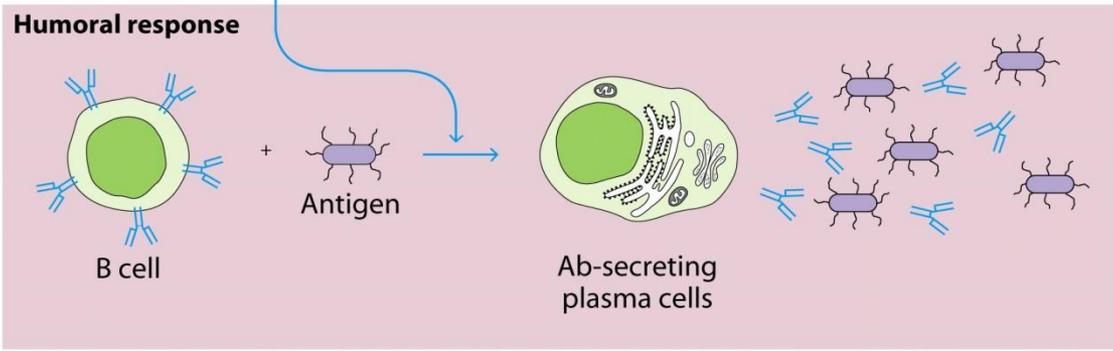
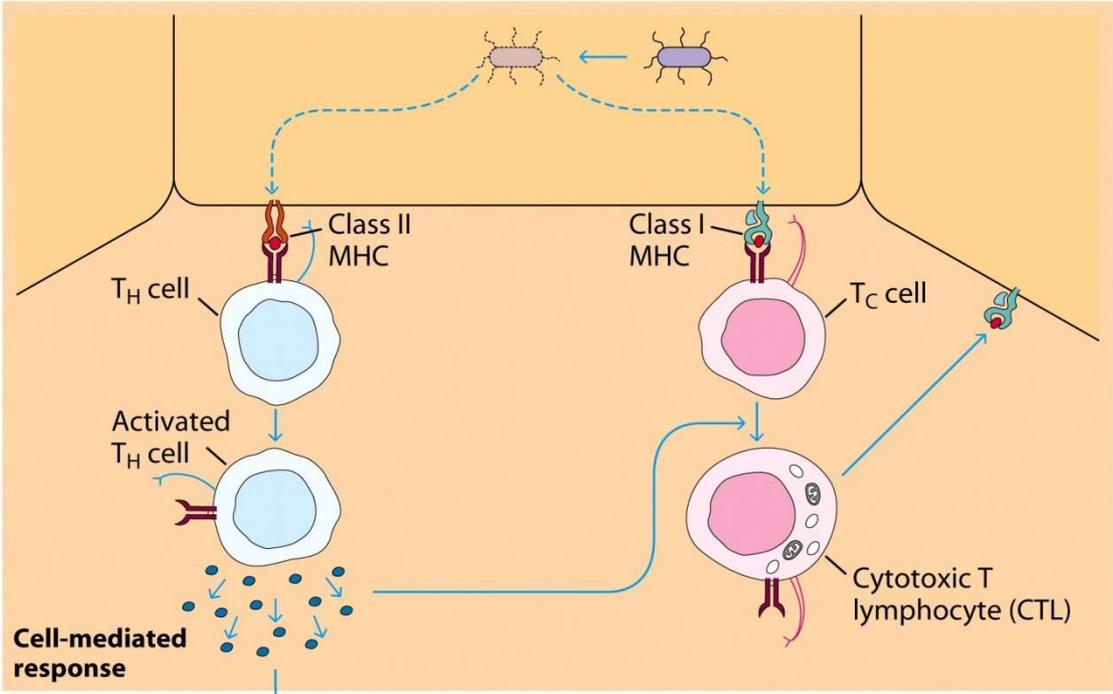
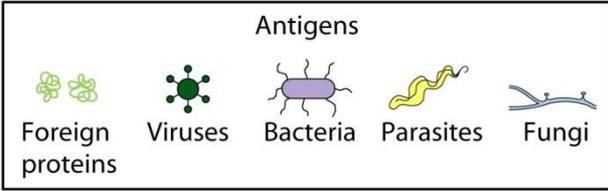
Антитела к цитоплазме нейтрофилов, цитоплазматическое свечение

## Основные направления развития лабораторной диагностики аллергических заболеваний

- Внедрение современных стандартов лабораторной диагностики аллергических заболеваний
- Внедрение новых методов лабораторной диагностики сенсibilизации к материалам для различных видов протезирования
- Экспресс-диагностика
- Совершенствование методов лабораторной диагностики лекарственной, профессиональной, грибковой сенсibilизации
- Использование одних и тех же рекомбинантных, синтетических компонентов аллергенов для лабораторной диагностики и специфической иммунотерапии

# АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ПРОФИЛАКТИКЕ И ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ





# Генетический полиморфизм рецепторов TLR-семейства

Ген	Полиморфизм гена	Полиморфизм белка	Фенотипическая ассоциация
TLR1	1805G/T	серин-602/изолейцин	Туберкулез, лепра
	944C/T	пролин-315/лейцин	
	743A/G	аспарагин-248/серин	
	914A/T	гистидин-305/лейцин	
TLR2	2408G/A	аргинин-753/глутамин	септический шок, туберкулез, менингит, лепра, остеомиелит
	2180C/T	аргинин-677/триптофан	туберкулез, менингит, лепра (особенно лепроматозная)
	2021C/A	пролин-631/гистидин	системная менингококкемия
	597T/C	аспарагин-199/аспарагин	туберкулез (особенно милиарный)
TLR6		пролин-680/гистидин	Туберкулез
	745T/C	серин-249/пролин	
	752T/A	лейцин-251/стоп-кодон	
	2069A/C	аспарагин-690/треонин	
	460/461Del AATAA	?	
TLR4	896A/G	аспарагин-299/глицин	Грам-негативные инфекции, в том числе сепсис и септический шок, вирус RSV
	1196C/T	треонин-399/изолейцин	
TLR5	1174C/T	аргинин-392/стоп-кодон	пневмония
TLR7	32A/T	?	хроническая HCV-инфекция
	2403G/A	?	

# Ассоциация полиморфизмов генов цитокинов с инфекциями и их исходом

Ген	Полиморфизмы и гаплотипы	Патоген	Фенотипическая ассоциация
IFNG	+874A/T CA-повторы	HBV	хроническая инфекция
	+874A/T	M. tuberculosis	туберкулез
	-764G/C	HCV	спонтанный клиренс
TNF	-238G/A -857C/T	HBV	хронический гепатит В
	-308G/-238G	HBV	хроническая инфекция
	-308G/A	H. pylori	гастрит и рак желудка
	CA-повторы	HPV18	рак шейки матки
IL10	-1082G/A, -819T/C, -592A/C	HCV	хронический гепатит С и цирроз
	-592 C/A +734 G/T +3367 G/A	RSV и другие возбудители	пневмония, осложненная сепсисом
	-592A/C	M. tuberculosis	туберкулез
	-174G/C	разные возбудители	хроническое воспаление и тяжелый сепсис
IL6	-174G/C	разные возбудители	сепсис, острый респираторный дистресс-синдром, генерализованное воспаление
	-236G	HIV и KSHV	саркома Капоши
	+4272C/T	вирус кори	корь

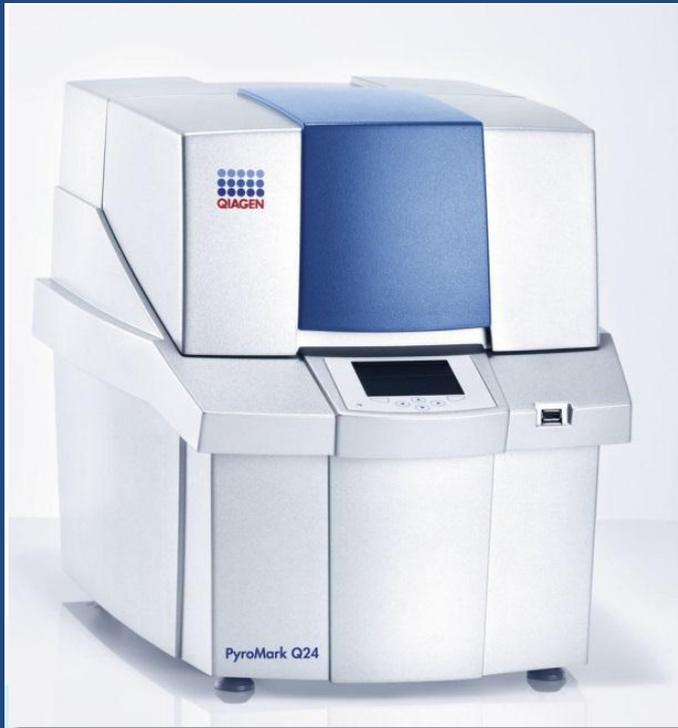
# Учебная лаборатория (молекулярно-генетическая)



# Учебная лаборатория (молекулярно-генетическая)



# Система генетического анализа PyroMark Q24



- Количественная оценка аллелей
- Обнаружение неизвестных вариаций нуклеотидных последовательностей
- Разностороннее исследование образца при единичном запуске прибора
- Быстрое получение точной и однозначной информации о нуклеотидной последовательности

## Наборы реагентов для детекции генетических полиморфизмов методом пиросеквенирования серии PyroMark

- Форма 1** – комплект реагентов для пробоподготовки «ПИРО-преп».
- Форма 2** «ТОНО-скрин» – профиль «Артериальная гипертензия».
- Форма 3** «ИБС-скрин» – профиль «Ишемическая болезнь сердца».
- Форма 4** «ЛИПО-скрин-Б» – профиль «Липидный обмен, базовый профиль».
- Форма 5** «ЛИПО-скрин-Д» – профиль «Липидный обмен, дополнительный профиль».
- Форма 6** «ПЛАЗМО-скрин» – профиль «Плазменные факторы системы свертывания крови».
- Форма 7** «ФОЛАТ-скрин» – профиль «Фолатный цикл».
- Форма 8** «ТРОМБО-скрин» – профиль «Агрегационные факторы системы свертывания крови».
- Форма 9** «BRCA-скрин» – профиль «Рак молочной железы и /или яичников».
- Форма 10** «ОСТЕО-скрин» – профиль «Остеопороз».
- Форма 11** «ДИАБЕТ-1-скрин» – профиль «Сахарный диабет 1-го типа».
- Форма 12** «ДИАБЕТ-2-скрин» – профиль «Сахарный диабет 2-го типа».
- Форма 13** «ДИАБЕТ-2Д-скрин» – профиль «Сахарный диабет 2-го типа, дополнительный профиль».
- Форма 14** «АДИПО-скрин» – профиль «Ожирение».
- Форма 15** «КОЛО-скрин» – профиль «Болезнь Крона».
- Форма 16** «ФАРМА-скрин-1» – профиль «I фаза биотрансформации, профиль 1».
- Форма 17** «ФАРМА-скрин-2а» – профиль «II фаза биотрансформации, профиль 1».
- Форма 18** «ФАРМА-скрин-2б» – профиль «II фаза биотрансформации, профиль 2».
- Форма 19** «ФАРМАдинамика-скрин» – профиль «Транспорт лекарств».
- Форма 20** «ФАРМА-скрин-Варфарин» – профиль «Варфарин».
- Форма 21** «ФАРМА-скрин-Иматиниб» – профиль «Иматиниб».
- Форма 22** «CCR5del32-скрин» – профиль «CCR5del32».
- Форма 23** «СПОРТ-мио-скрин» – профиль «Структура мышц».
- Форма 24** «СПОРТ-энерго-скрин» – профиль «Энергетический обмен».
- Форма 25** «ФАРМА-скрин-1б» – профиль «I фаза биотрансформации, профиль 2».
- Форма 26** «VEGFA/NOS3-скрин» – профиль «Сосудистые факторы».
- Форма 27** «UGT1A1-скрин» – профиль «Синдром Жильбера».
- Форма 28** «IL28B-скрин» – профиль «Интерлейкин-28В».

**Достижение устойчивого вирусологического ответа в зависимости от генотипа больного ХВГС при исследовании вариантов полиморфизма интерлейкина 28В, %**

Генотип пациента		Количество больных, достигших УВО, % от количества пациентов с данным генотипом	Количество больных, достигших УВО, % от общего количества исследованных пациентов (n=200)
rs8099917	TG	30	12
	TT	80	48
rs12979860	CT	42	24
	CC	100	42

# Структура ЦКЛД



# ЦКЛД (модуль №4, 3-7 этажи)





# Инновационная биосенсорная технология PLEX

Метод основан на сочетании мультиплексной ПЦР с время-пролетной масс-спектрометрией нуклеиновых кислот

## Возможности технологии

- SNP-генотипирование
- Количественный анализ экспрессии генов
- Идентификация микроорганизмов (практически все бактерии, вирусы, грибы, определенные виды простейших, в том числе информация о лекарственной устойчивости, вирулентности, токсикогенности)
- Количественный анализ метилирования ДНК
- Профилирование редких соматических мутаций



# **Задачи лабораторного сопровождения донорства и трансплантации**

- **определение совместимости донора и реципиента (трансплантационная иммунология)**
- **разделение реципиентов по группам риска (в зависимости от предшествующей сенсibilизации)**
- **контроль адекватности иммуносупрессивной терапии**

# Определение совместимости донора и реципиента (трансплантационная иммунология)

- HLA-генотипирование донора (по локусам A, B, C, DR) и реципиента (по локусам A, B, DRB1)
- выявление HLA-антител до трансплантации
- определение специфичности HLA антител с расчетом PRA%
- постановка реакции прямой перекрестной пробы (cross-match)
- определение донор-специфичных комплимент-фиксирующих антител после трансплантации для раннего прогноза отторжения
- мониторинг маркеров острого ренального отторжения:  
OP-10, MIG, OPG

# Новое направление в иммунотерапии: агонисты и антагонисты PRR

Тип препарата	PRR	Клиника
<b>Агонисты-МБАФ</b>		
ГМДП (пептидогликан)	NOD2	зарегистрированный ИмСт
GM-TriDap (пептидогликан)	NOD1	клинические испытания
Poly IC-Poly Arg (вир. РНК)	TLR-3	адъювант
MPLA (липополисахарид)	TLR-4	адъювант, ИмСт
CpG ODN (бакт. ДНК)	TLR-9	астма, онкология, адъювант
<b>Химические агонисты</b>		
CRX-675, Ribi529	TLR-4	адъювант, ИмСт
Имиквимод, изатарибин	TLR-7	зарегистр. противовирусные
ANA773	TLR-7	противовирусный
<b>Антагонисты</b>		
Налоксон/налтрексон	TLR-4	нейропатическая боль
Eritoran (E5564, Eisai)	TLR-4	кардиовоспаление, сепсис
Modif. CpG ODN	TLR-9	энцефаломиелит (РС)





## III Российский конгресс лабораторной медицины – междисциплинарная площадка для общения медицинского сообщества

### КОНФЕРЕНЦИИ:

- «День сепсиса»
- «Цитология для гинеколога»
- «Эндокринология»
- «Бактериофаги для дезинфекции»
- «Гемостаз: вчера, сегодня, завтра»
- «Лабораторная служба в условиях реформирования»

### ПОСТЕРНАЯ ЗОНА

#### ШКОЛА ПО ПРЕАНАЛИТИКЕ ДЛЯ СМП

### II МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

- «Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания»



### ДЕНЬ КИТАЯ:

- Секция «РОССИЯ – КИТАЙ: обмен опытом в лабораторных исследованиях»
- Знакомство с культурой Китая

**280**  
докладчиков

### ХЕДЛАЙНЕРЫ:



д.м.н., профессор,  
академик РАН  
Н.И. Брикко



д.м.н., профессор  
М.А. Гордов



д.м.н., профессор  
В.В. Долгов



д.м.н., профессор  
член-корреспондент РАН,  
А. М. Иванов



д.м.н., профессор  
А.Г. Кочетов



д.м.н.  
С.А. Краевой



д.м.н., профессор  
член-корреспондент РАН,  
Н.В. Кушлинский



д.б.н., профессор  
В.Н. Малахов



к.м.н.  
А.В. Можаев



д.м.н., профессор  
Л.М. Рощаль



д.м.н., профессор  
Д.Б. Сапрыгин



д.м.н.  
М. Л. Севченко



к.м.н.  
Т.В. Семенова



д.м.н., профессор  
О.А. Тарасенко



д.б.н., профессор  
И.С. Тарловский



д.м.н., профессор  
В.Н. Титов



к.ф.-м.н.  
А.Н. Шибенов



д.м.н., профессор  
академик РАН,  
В.А. Черепанов

Министерство обороны Российской Федерации  
Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова  
Кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики

Кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова была основана в 1930 году. В настоящее время здесь работают высококвалифицированные специалисты. Кафедра имеет в своем составе 10 кабинетов и лабораторий, оснащенных современным оборудованием. В настоящее время кафедра занимается научными исследованиями в области биохимии, клинической лабораторной диагностики, иммунологии, гематологии, молекулярной биологии, генетики, цитологии, гистологии, анатомии, физиологии, биохимии, биологии, химии, физики, математики, информатики, лингвистики, философии, истории, права, экономики, социологии, психологии, педагогики, культуры, искусства, спорта, туризма, журналистики, менеджмента, маркетинга, рекламы, связей с общественностью, иностранных языков, а также других наук.

**Учебная лаборатория**

На кафедре для учебного процесса используются:

- Микроскоп с программой анализа изображений (используется для обследования больных с различными гематологическими и наследственными заболеваниями).
- Флуоресцентный микроскоп (также оснащенный программой анализа изображений, используется для выявления патологий на уровне как хромосом так и генов, используется для диагностики хромосомных нарушений, в том числе и при выявлении химеризации родичей).
- Противный цитометр и сортиратор клеток, обладает широкими возможностями для проведения аналитических и научных исследований в медицине и биологии. Данная аппаратура позволяет выявлять и сортировать редкие малоколичественные клетки из гетерогенных клеточных систем. Например, выделять циркулирующие опухолевые клетки из лейкоцитов человека, проводить в дальнейшем молекулярно-генетический анализ.



Министерство обороны Российской Федерации  
Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова  
Кафедра химии, кафедра биологической и медицинской физики

г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6 лит. В, инв. 56/50  
Шифр: 56-58  
Государственный контракт: ДРЗ-340/58 от 04.12.2013г.  
Ввод на Государственный контракт: 15.04.2014г.  
Заказчик строительства: Региональное управление заказчика жилищного строительства Западного военного округа  
Генеральный подрядчик: АО «Главное управление объектов войск МО РФ  
Представитель генерального подрядчика: Научный региональный управленец АО «УОБ» по Западному военному округу Ильяевский Кабулов



A photograph of a grand, ornate staircase in a classical building. The staircase is carpeted with a patterned runner and is flanked by dark wood railings with intricate carvings. At the top of the stairs, a bronze bust of a man is placed on a dark stone pedestal. The walls are light green and white, with arched doorways and recessed lighting. A single pendant light hangs from the ceiling. The overall atmosphere is formal and historical.

**БЛАГОДАРЮ ЗА  
ВНИМАНИЕ!**